

**UNIVERSIDAD DE SEVILLA**

**FACULTAD DE MEDICINA**



***TESIS DOCTORAL***

**ESTUDIO DE LA MINERALIZACIÓN OSEA EN  
LOS NIÑOS CON ENFERMEDAD CELIACA**

Jose Carlos Salazar Quero

Sevilla, 2016

D. FEDERICO ARGÜELLES MARTIN, Doctor en Medicina, Profesor Titular de Pediatría de la Facultad de Medicina de Sevilla y Jefe de la Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Infantil del Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla,

CERTIFICA:

Que el trabajo de investigación que presenta D. JOSE CARLOS SALAZAR QUERO titulado “Estudio de la mineralización ósea en los niños con enfermedad celiaca” ha sido realizado bajo mi dirección, y considero que tiene el contenido y rigor científico necesarios para ser sometido al superior juicio de la comisión que nombre la Universidad de Sevilla para optar al Grado de Doctor.

Y para que así conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, expido y firmo el presente certificado en

Sevilla, a 1 de Junio de 2.016

Fdo.: Dr. Federico Argüelles Martín

D<sup>a</sup>. BEATRIZ ESPIN JAIME, Doctor en Medicina, Facultativo Especialista de Área de la Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Infantil del Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla,

**CERTIFICA:**

Que el trabajo de investigación que presenta D. JOSE CARLOS SALAZAR QUERO titulado “Estudio de la mineralización ósea en los niños con enfermedad celiaca” ha sido realizado bajo mi dirección, y considero que tiene el contenido y rigor científico necesarios para ser sometido al superior juicio de la comisión que nombra la Universidad de Sevilla para optar al Grado de Doctor.

Y para que así conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, expido y firmo el presente certificado en

Sevilla, a 1 de Junio de 2016

Fdo.: Dr. Beatriz Espín Jaime

D<sup>a</sup>. ROSARIO GARCIA JIMENEZ, Doctor en Medicina, Facultativo Especialista de Area de la Unidad de Medicina Nuclear del Hospital Universitario Virgen del Rocio de Sevilla,

CERTIFICA:

Que el trabajo de investigación que presenta D. JOSE CARLOS SALAZAR QUERO titulado “Estudio de la mineralización ósea en los niños con enfermedad celiaca” ha sido realizado bajo mi dirección, y considero que tiene el contenido y rigor científico necesarios para ser sometido al superior juicio de la comisión que nombre la Universidad de Sevilla para optar al Grado de Doctor.

Y para que así conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, expido y firmo el presente certificado en

Sevilla, a 1 de Junio de 2.016

Fdo.: Dr. Rosario García Jiménez



## **AGRADECIMIENTOS:**

Mi agradecimiento a:

La Dra. Beatriz Espín Jaime, mujer infatigable, exigente, sabia, observadora, maestra y serena, sin ella yo no estaría donde estoy ni haría lo que hago. Gracias por confiar en mi y por enseñarme que los niños son los que nos permiten aprender.

A los Drs. Federico Argüelles Martín y Rosario García Jiménez, sin sus consejos y ayuda esta tesis no podría ver la luz.

A la Dra. Carolina Sousa, ángel caído del cielo cuando más lo necesitaba.

Al Dr. Alejandro Rodríguez Martínez por acogerme como a un hermano y ser el mejor compañero de este y otros muchos viajes. Esta tesis es una parte tuya también.

A Justo Valverde Fernández y María Rubio Murillo, compañeros y amigos, ayuda indispensable para este trabajo.

A la Dra. Antonia Pizarro Martín, persona inmensa, por enseñarme que, como mucho, uno puede llegar a saberlo “casi todo”.

A Jesús, Juanfran, Carmen, Africa, Victoria, Ana, Aurora, Francisco, Leticia, por tener paciencia conmigo.

Al Dr. Mariano Cubero por enseñarme el arte de la pediatría.

A Juan Manuel Praena por su ayuda en el análisis estadístico.

A mis compañeros del Hospital Infantil, médicos adjuntos y residentes por compartir esfuerzos y alegrías todos estos años.

A mis padres, Jose y Paqui, ejemplo permanente, me lo han dado todo y yo a ellos muy poco.

A Elisa, Pablo y Javier, por sus ánimos constantes y el tiempo robado.

A Adolfo, Loli, Agustín y M<sup>a</sup> Cabeza, mejores amigos no podría encontrar.

A Eduardo, Elisa y mi familia, con los que estaré siempre en deuda.

## ABREVIATURAS:

Ac – anticuerpo

aDMO- área de densidad mineral ósea

ADN- ácido desoxirribonucleico

ANA- anticuerpos antinucleares

AO- área ósea

ATP- adenosin trifosfato

BMA- bone mineral área

BMC- bone mineral content

BMD- bone mineral density

BMM- Bone mineral mass

BMP- proteínas morfogénicas óseas

BUA- Broadband Ultrasound Attenuation

Ca- calcio

CBFA- Core binding factor alfa

CFU G- Unidades formadoras de colonias granulocitos

CFU GM- Unidades formadoras de colonias granulocitos y monocitos.

CFU M- Unidades formadoras de colonias monocitos

CFU- unidades formadoras de colonias

CICP- Propéptido C-terminal del colágeno tipo 1

CMI- contenido mineral óseo

CTX- telopéptido carboxiterminal del colágeno tipo 1

DAP12- DNAX activating protein OSCAR (osteoclast-specific activating receptor)

DEXA- dual energy X-ray absorptiometry

DM- diabetes mellitus

DMO - densidad mineral ósea

DS- desviación standard

DXA - Densitometría

DXA-Dual X-ray absorptiometry

EALT- enteropatía asociada a linfoma T

EC- enfermedad celiaca

EII - enfermedad inflamatoria intestinal

ESPGHAN- Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátricas

FAO- fosfatasa alcalina ósea

FcR $\gamma$  - Fc receptor common gamma chain

FEC- factor estimulante de colonias

FGF- factor de crecimiento fibroblástico

FI- factor intrínseco

HC- hidratos de carbono

HHUU- Hospitales Universitarios

Hilo-TCII- hilo transcobalamina

HLA- Antígenos leucocitarios humanos

IBP- inhibidores de la bomba de protones

IFN- interferón

IgA- inmunoglobulina A

IGF- factor de crecimiento similar a la insulina

IL- interleuquina

IMC- índice de masa corporal

ITAM- Inmunorreceptor basado en tirosina

JAKS- familia Janus de las tirosin-quinasa

k- potasio

LDH- láctico deshidrogenasa

LIE- linfocitos intraepiteliales

M-CSF - factor estimulante colonias de monocitos

Md- media

mg – magnesio

MMP-13- Metaloproteína 13

MO- mineralización ósea

mRNA- ácido ribonucleico mensajero

Na- sodio

NASPGHAN- Sociedad Norteamericana de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición pediátricas

NFAT- factor nuclear de las células T activadas

NFkB- factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas

NTX- Telopéptido aminoterminal del colágeno tipo 1

OP- proteína osteogénica

OPG- osteoprotegerina  
 OSCAR - osteoclast-specific activating receptor  
 P – fosfato  
 PDGF- factor de crecimiento derivado de las plaquetas  
 PINP- Propéptido N-terminal del colágeno tipo 1  
 PPAR $\gamma$  – Peroxime proliferator-activated receptor  
 prepro-PTH- prepropéptido Parahormona  
 PTH- parathormona  
 PTH-rp- proteína relativa la hormona parathormona  
 QCT- Tomografía computarizada tridimensional  
 QDR-Quantitative digital radiology  
 RANK- receptor activador of nuclear factor KB  
 RDA- recomendado allowed adecuacy  
 RDI- ingesta diaria recomendada  
 RER- retículo endotelial  
 RM- resonancia magnética  
 Runx-2- Rnut-related transcription factor 2  
 SOS- Speed of Sound  
 TAC- tomógrafos axial computerizada  
 TAFI - inhibidor activado fibrinolisis por trombina  
 TCR- Receptor de linfocitos T  
 TGF- factor de crecimiento transformante  
 TGt- enzima tisular transglutaminasa  
 TNF- factor de necrosis tumoral  
 TRAF- factores citoplasmáticos asociados al TNFR  
 TRAP- fosfatasa ácida resistente a tartato  
 TREM2- triggering receptor expressed on myeloid cells  
 UBM- unidades básicas multicelulares  
 UBM- unidades básicas multicelulares  
 US- ultrasonidos  
 VEGF- factor de crecimiento del endotelial vascular  
 VEGF- factor de crecimiento del endotelial vascular  
 Wnt- proteínas lipídicas modificadas con señal glicoprotéica  
 $\beta$ CTX - $\beta$ -CROSS-LAPS

## INDICE

### I. ENFERMEDAD CELIACA

- a) Introducción.
- b) Patogenia de la enfermedad.
- c) Clínica
  - 3.1 Manifestaciones hematológicas
    - a) Anemia ferropénica
    - b) Déficit de ácido fólico
    - c) Déficit de Vitamina B12
    - d) Trombopenia y trombocitosis
    - e) leucopenia/neutropenia
    - f) Tromboembolismo arterial y venoso
    - g) Hipoesplenismo
  - 3.2 Déficits nutricionales
  - 3.3 Repercusión en los índices antropométricos
- d) Osteopatía
  - 4.1 Fisiología
    - a) Malabsorción
    - b) Cambios inmunológicos e inflamatorios
  - 4.2 Riesgo de fractura
  - 4.3 Manejo de la pérdida ósea en los pacientes con enfermedad celiaca
    - a) Impacto de una dieta sin gluten en la masa ósea de niños y adolescentes.
    - b) Impacto de la dieta sin gluten en la edad adulta.
    - c) Ingesta diaria de calcio y vitamina D.
  - 4.4 Prevención y tratamiento de la pérdida ósea en los pacientes celíacos
- e) Enfermedades asociadas
  - 5.1 Déficit de IgA.
- f) Diagnóstico
- g) Tratamiento.

- h) Seguimiento
- i) Prevención

## II. FISIOLÓGÍA DEL TEJIDO ÓSEO

1. Generalidades del tejido óseo
2. Huesos y tejido óseo
3. Estructura general de los huesos
  - 3.1 Superficie externa de los huesos
  - 3.2 Cavidades óseas
  - 3.3 Hueso maduro
4. Células del tejido óseo
  - 4.1 Células osteoprogenitoras
  - 4.2 Osteoblastos
  - 4.3 Osteocitos
  - 4.4 Células de revestimiento óseo
  - 4.5 Osteoclastos
5. Remodelado óseo
6. Regulación del remodelado óseo
  - 6.1 Factores mecánicos
  - 6.2 Factores neurológicos
  - 6.3 Factores humorales generales y locales.
    - a. Hormona paratiroidea
    - b. 1,25-dihidroxicolecalciferol
    - c. Calcitonina
    - d. Sistema RANK-RANKL-OPG
    - e. Interleucinas
    - f. Factores insulin like. IGF-I y II
    - g. Linfotóxina y Factor de Necrosis Tumoral (TNF)
    - h. Factor estimulador de colonias-1
    - i. Proteínas morfogenéticas
    - j. Factor de Crecimiento Transformante Beta (TGF-  $\beta$ )
    - k. Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF)
    - l. Prostaglandinas y leucotrienos
    - m. Hormonas tiroideas

- n. Glucocorticoides
- o. Estrógenos y andrógenos
- p. Hormona de crecimiento (GH)
- q. Factor de crecimiento fibroblástico (FGF)

#### 7. Marcadores de remodelado óseo

- 7.1 PINP y CICP
- 7.2 Fosfatasa ácida tartrato resistente
- 7.3 Fosfatasa alcalina
- 7.4 Osteocalcina
- 7.5 Osteoprotegerina
- 7.6  $\beta$ -CROSS-LAPS
- 7.7 Índice calcio-creatinina en orina
- 7.8 Hidroxiprolina e hidroxilisina
- 7.9 Piridolina/Desoxipiriridolina
- 7.10 Telopéptidos
- 7.11 Catepsina K

#### 8. Marcadores de resorción en la celiaquía

### III. DENSITOMETRIA OSEA

- 1. Características del examen
  - 1.1. Densitometría radiológica de doble energía
    - a. Principio de funcionamiento.
- 2. Parámetros, valores de referencia e interpretación de los resultados.
  - 2.1. Parámetros de medida de la masa ósea
  - 2.2. Valores de referencia
  - 2.3. Interpretación de los resultados

### IV. PROTOCOLO DE ESTUDIO

- 1. Justificación
- 2. Hipótesis de estudio
- 3. Objetivos principales
- 4. Material y método
  - 4.1. Material
    - 4.1.1. Población de estudio



- 4.1.2. Criterios de inclusión
- 4.1.3. Criterios de exclusión
- 4.1.4. Tamaño muestral
- 4.2. Variables estudiadas
  - 4.2.1. Datos generales
  - 4.2.2. Antecedentes personales
  - 4.2.3. Antropométricas
  - 4.2.4. Clínicas
  - 4.2.5. Histológicas
  - 4.2.6. Datos analíticos
  - 4.2.7. Dietéticos-nutricionales
  - 4.2.8. Densitometría
- 4.3. Método
  - 4.3.1. Estructura del estudio
  - 4.3.2. Fuentes, métodos e instrumentos de recolección de datos
  - 4.3.3. Metodología de análisis y proceso estadístico de los datos
  - 4.3.4. Sesgos
- 4.4. Aspectos éticos

## V. RESULTADOS

1. Datos generales y antecedentes personales
2. Antropometría
3. Clínica
4. Datos nutricionales
5. Valores de laboratorio
6. Histología
7. Densitometría

## VI. DISCUSION

1. DMO al diagnóstico
2. DMO tras dieta sin gluten
3. Dieta
4. Parámetros antropométricos
5. Parámetros analíticos

## VII. CONCLUSIONES

VIII. ANEXO I

IX. ANEXO II

X. BIBLIOGRAFIA

## I. ENFERMEDAD CELIACA

### 1. Introducción.

La enfermedad celiaca se define como una permanente sensibilidad al gluten presente en el trigo, cebada y centeno. Aparece en individuos genéticamente susceptibles y se manifiesta como una enteropatía autoinmune con unos cambios característicos a nivel histológico intestinal. (1-3) Los pacientes pueden presentar diferentes grados de afectación inflamatoria intestinal, desde una linfocitosis intraepitelial a una infiltración mononuclear severa de la lamina propia con atrofia vellositaria e hiperplasia de criptas. (3).

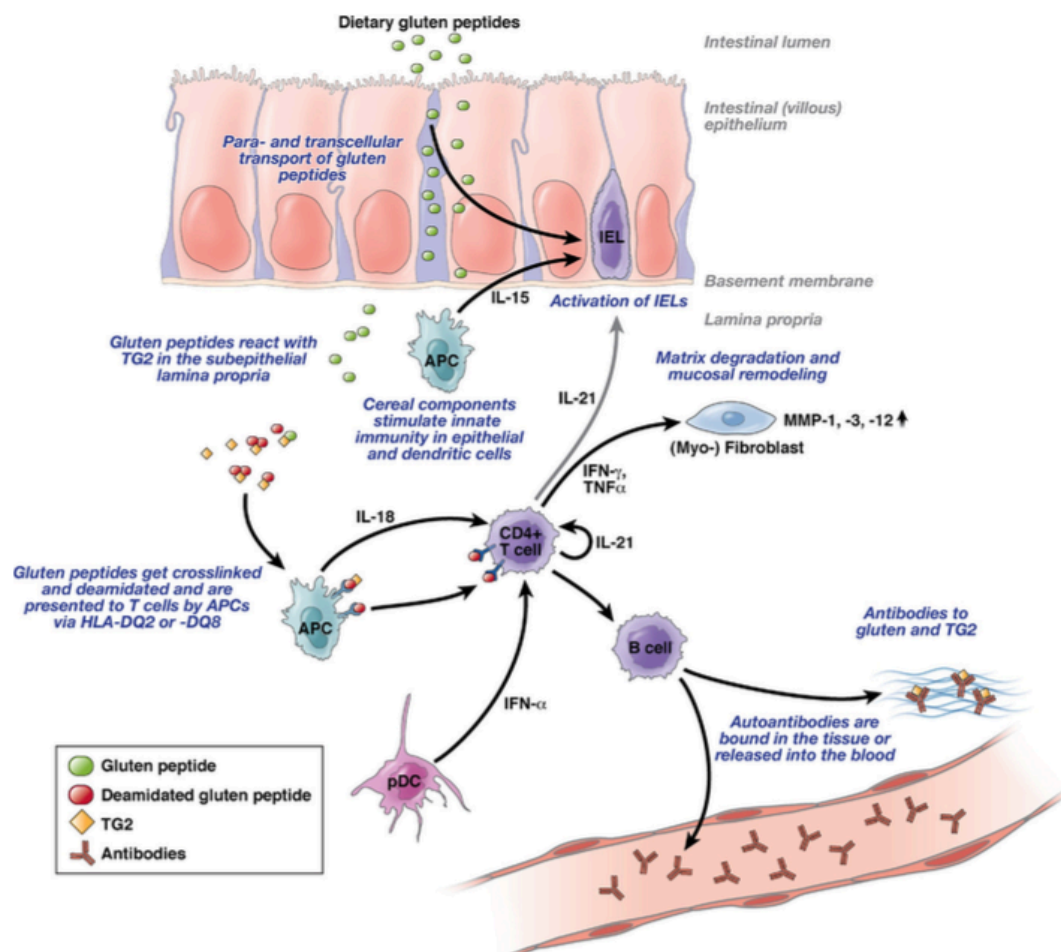
Se estima una prevalencia del 0'5 – 1% en Europa y Estados Unidos, aunque el posible retraso entre la aparición de los síntomas y el diagnóstico provoca que existan casos no diagnosticados. (1, 2, 4) Así, un reciente estudio en el Reino Unido ha revelado que aproximadamente el 90% de los niños con enfermedad celiaca que son asintomáticos permanecen sin diagnosticar(5). Su incidencia parece aumentar con la edad, ya que se ha llegado a estimar una prevalencia de 1:47 sujetos en pacientes mayores de 52 años. (3)

Desde el punto de vista clínico, los pacientes pueden presentarse sin síntomas (silentes), síntomas leves (oligoasintomáticos) o con clínica sin diarrea asociada (celiaquia atípica). Entre los pacientes oligoasintomáticos la enfermedad celiaca se asocia con anemia, osteoporosis y afectación de la calidad de vida, datos que en muchos casos se solapan con la celiaquia atípica caracterizada por síntomas de artritis, infertilidad, hipertransaminasemia e incluso fallo hepático. Existen casos descritos de pacientes con anticuerpos circulantes pero sin lesión a nivel intestinal con manifestaciones neurológicas como ataxia, neuropatía periférica, esquizofrenia o autismo que han mejorado con la retirada del gluten de la dieta, lo que provoca que algunos autores postulen la existencia de individuos en los cuales la sensibilidad al gluten no se manifiesta desde un punto de vista digestivo sino neurológico (3).

El tratamiento actual de la enfermedad celiaca se basa en la exclusión de manera estricta del gluten de la dieta(3, 4).

### 2. Patogenia de la enfermedad.

Se ha encontrado una fuerte asociación entre los genes que codifican las moléculas HLA de clase II y la EC, concretamente con la molécula heterodímera DQ2, situada en la superficie de células implicadas en la respuesta inmune, codificada por los alelos DQA1\*05 B1\*02. Dichos alelos están presentes en el 95% de los enfermos celíacos, comparado con el 20% en grupos control. La mayor parte de los otros pacientes celíacos negativos para DQ2 portan la molécula DQ8 (DQA1\*03 B1\*0302). El hecho de que un 30% de la población general presente los alelos de riesgo y que de ellos sólo 1 de cada 20 de estos sujetos desarrollen la enfermedad junto a la existencia de gemelos monocigotos discordantes para la EC, pone de manifiesto la existencia de otros genes implicados en su etiopatogenia(6). Aún así la presencia del DQB1\*02 en homocigosis incrementa por cinco el riesgo de presentar la enfermedad y se ha demostrado que los sujetos que lo presentan poseen títulos de Ac más elevados y mayores grados de lesión en la biopsia(5). Otro dato llamativo es que la distribución de estos HLA parece que no es homogénea entre los sexos, habiéndose encontrado una relación mujer/hombre de 3:1 para individuos celíacos con DQ2-DQ8 negativo, lo que podría explicar la relación 2:1, mujer/hombre de la enfermedad(5). De todos modos, el HLA explica sólo el 40% del riesgo heredable de padecer enfermedad celiaca(5), estando hasta la fecha identificados hasta 13 genes (denominados CELIAC) relacionados con la enfermedad celiaca(3).



**Ilustración 1. Patogénesis de la EC.** Tomado de Ref. (3). Los péptidos del gluten que son altamente resistentes a las proteasas intestinales, alcanzan la lámina propia por transcitos o debido a un aumento de la permeabilidad de las tight junctions. La deaminación de los péptidos por la transglutaminasa tipo 2 genera potentes épitops que son presentados vía HLA DQ2 o HLA DQ8 al linfocito T. Como consecuencia las células CD4 positivas se activan creando citoquinas vía Th-1, como el Interferón alfa que induce la activación de polimorfo nucleares neutrófilos por miofibroblastos, provocando finalmente el remodelado de la mucosa y la atrofia vellositaria. Conjuntamente, también se producen citoquinas liberadas por linfocitos Th2 que producen la generación de autoanticuerpos frente al gluten y la transglutaminasa tipo 2. Otras citoquinas como la IL-18, el interferón alfa o la IL-21 parecen jugar un papel en la polarización y mantenimiento de la respuesta Th1.

Estos HLA clase II son expresados en células presentadoras de antígenos (macrófagos, células dendríticas y células B) junto con péptidos de gluten. Esto provoca en los pacientes celíacos la activación de linfocitos CD4 T-helper 1 (Th1) en la lámina propia, que se va a convertir en la célula efectora central del proceso inflamatorio intestinal. (Ilustración 1).

Además de los genes se han determinado otros factores como la exposición temprana al gluten en la dieta o infecciones enteropáticas virales o cambios en la microflora como favorecedoras del desarrollo de la enfermedad celiaca(3, 5).

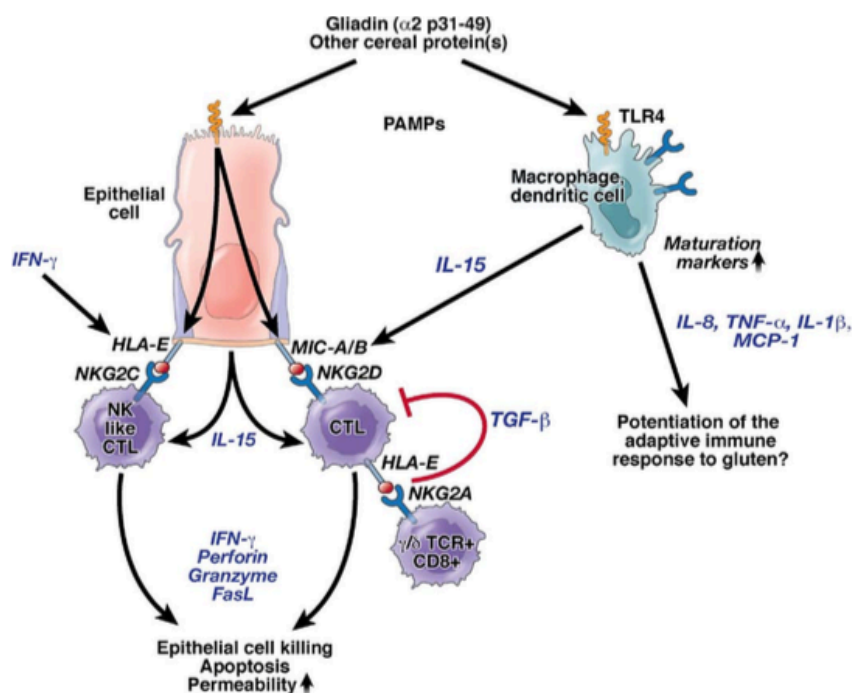
Prácticamente todos los pacientes con enfermedad celiaca presentan anticuerpos tipo IgA frente a la enzima tisular transglutaminasa (TGt), expresada en multitud de células y asociada con la matriz extracelular (endomisio y fibras de reticulina). La transglutaminasa pertenece a una familia heterogénea de enzimas calcio-dependientes que cataliza la formación de enlaces entre proteínas. La TGt interviene en el ensamblaje de la matriz extracelular y en los mecanismos de reparación tisular, actuando las gliadinas del trigo como sustrato de estas reacciones. En tejidos lesionados, como la mucosa del intestino delgado de la EC no tratada, los niveles de TGt aumentan.

Existen datos que apoyan que la TGt actúa de forma específica sobre los péptidos de las gliadinas, produciendo residuos cargados negativamente por desamidación de una glutamina a ácido glutámico. Esta actividad produce complejos entre el autoantígeno (TGt) y la gliadina, generándose epitopos nuevos capaces de unirse muy eficazmente a las moléculas DQ2 o DQ8 (ambas con preferencia por cargas negativas) expresadas en la superficie de las células intestinales presentadoras de antígeno, y que son reconocidos por células T derivadas del intestino de pacientes celíacos. El estímulo de estas células T CD4+ (cooperadoras), específicas para la gliadina, sobre el complejo TGt-gliadina actúa sobre las células B para la producción de anticuerpos frente a TGt y frente a gliadina.

Los péptidos del gluten resisten fácilmente a la acción de las enzimas proteolíticas digestivas, lo que facilita su disponibilidad a nivel intestinal. Cómo los péptidos inmunogénicos alcanzan la lámina propia continua siendo controvertido, defendiéndose que lo hacen a través de transcitosis celular(3, 6, 7).

La reacción inmune que genera el gluten es una reacción inmediata en la que principalmente intervienen los linfocitos intraepiteliales como células centrales de la reacción en la cual intervienen mediadores inflamatorios como la IL-15, el TGF- $\beta$ 1, la IL-21, IFN $\gamma$  o el TNF $\alpha$ . Estas citoquinas son importantes vehículos a través de las cuales se produce la remodelación de la superficie intestinal que resulta en la atrofia vellositaria y la hiperplasia de criptas. El IFN $\gamma$ , activa a los macrófagos que a través de otros mediadores como el TNF $\alpha$  activa enzimas proteolíticas que ejercen su acción a nivel de la matriz extracelular(3, 5). (Ilustración 2)

El papel de microorganismos proinflamatorios como E. coli o Bacteroides como favorecedores de la aparición clínica de la enfermedad está siendo estudiado (5)



**Ilustración 2. Respuesta inmune en la EC.** Tomado de Ref (3). A través de la estimulación del péptido de gliadina p31-49 y otros péptidos, las células epiteliales, macrófagos y células dendríticas secretan IL-15 estimulan el receptor NKG2D en las células intraepiteliales y el ligando MICA. Esto provoca el estímulo de linfocitos citotóxicos que inducen la apoptosis epitelial y un aumento en la permeabilidad. Además, el receptor NKG2C existente en células Natural Killers intraepiteliales es estimulado vía ligando HLA-E existente en las células epiteliales, provocando su proliferación y citotoxicidad, mientras que la estimulación por CD8 gammadelta positivos que produce el receptor NKG2A vía HLA-E, induce la secreción de TGF-beta y por lo tanto una regulación fenotípica. Los péptidos de gliadina pueden también directamente estimular la respuesta inmune en macrófagos y células dendríticas a través de receptores como el Tcell-like 4. Esta vía de maduración celular y la secreción de citoquinas inflamatorias como la IL-1beta, IL-8, el TNF-alfa y el MCP-1 pueden potenciar la respuesta inmune adaptativa al gluten.

### 3. Clínica.

La enfermedad celiaca afecta principalmente al intestino por lo que sus manifestaciones suelen estar referidas al tracto gastrointestinal. A pesar de ello, los síntomas pueden ser múltiples y en bastantes casos incluso no existir o ser oligosintomáticos.

Entre la clínica gastrointestinal síntomas como la diarrea, vómitos, fallo de crecimiento, estreñimiento o la distensión abdominal son los más frecuentes. La forma clásica de la enfermedad celiaca es aquella que comienza a los 6-24 meses de haber introducido el gluten en la dieta, con un cuadro de diarrea, anorexia, distensión y/o dolor abdominal, escasa ganancia de peso y vómitos. Suele asociar cambios en el carácter y en el comportamiento. En niños muy afectados puede llegar a observarse una crisis celiaca,

consistente en diarrea acuosa explosiva, distensión abdominal marcada, deshidratación, letargia, hipotensión, e hipokaliemia(1, 2, 7, 8).

Además de esta clínica digestiva, los pacientes celíacos pueden presentar otros síntomas extradigestivos. Entre ellos destacan la dermatitis herpetiforme, alteraciones en la dentición, osteoporosis, fallo de medro (8-10% de los casos), retraso en la menarquia, anemia ferropénica que no responde a tratamiento con hierro, hipertransaminasemia, artritis (3%) e incluso epilepsia con calcificaciones intracraneales(1, 2, 6).

En un estudio realizado en la clínica Mayo se concluye que los pacientes con enfermedad celíaca multiplican 2-2,5 más riesgo de padecer fracturas si no realizan tratamiento (5). Otras de las posibles complicaciones que se han asociado a la celiaquía son: pancreatitis; sepsis; tromboembolismo venoso y enfermedad cardiovascular secundaria a hiperhomocisteinemia o sarcoidosis(5, 6).

Además de las formas de presentación clásica o con síntomas extradigestivos hay otras situaciones dentro del diagnóstico de la enfermedad celíaca que se han descrito. Así hay sujetos que presentan HLA compatible con marcadores serológicos positivos y una lesión histológica pero que no presentan clínica, que son catalogados como celíacos silentes(2).

El término celiaquía latente se reserva a aquellos individuos que consumiendo gluten, presentan un HLA compatible, sin enteropatía actualmente pero que han presentado en algún momento de su vida una enteropatía relacionada con el gluten. Este paciente puede tener o no tener síntomas y puede o no tener anticuerpos(2).

Se habla de celiaquía potencial en aquellos pacientes con una HLA compatible y anticuerpos positivos pero sin lesiones histológicas con o sin clínica. Estos pacientes pueden o no desarrollar una enteropatía por gluten con el tiempo(5).

### 3.1 Manifestaciones hematológicas.

La enfermedad celíaca es una causa común de trastornos hematológicos, de los cuales el más frecuente es la anemia que es debida usualmente al déficit de absorción de micronutrientes como el hierro, el ácido fólico y la vitamina B2.(7, 9) Déficit en Zinc (con la aparición de anemia y trombocitopenia), vitamina B6, ácido pantoténico, riboflavina también se han descrito.(10, 11)



#### a. Anemia ferropénica.

Es frecuente encontrarla en los pacientes con EC, pudiendo ser la forma extraintestinal más frecuente de manifestarse, así como ser la única manifestación. Esta anemia es frecuentemente hipoproliferativa, reflejando la alteración en la absorción de nutrientes esenciales como el hierro y varias vitaminas. La prevalencia de la anemia varía según las series del 13-69% en pacientes diagnosticado de novo de EC con una mayor prevalencia en niños que en adultos. La refractariedad al tratamiento con hierro puede ser la única manifestación de un paciente con EC (la prevalencia de EC en pacientes con anemia ferropénica refractaria puede alcanzar el 20%). Fisiopatológicamente la anemia se debe a la escasa ingesta y/o a la imposibilidad de la absorción del hierro a nivel intestinal (parte proximal del intestino delgado), aunque se ha descrito como otra de las causas de anemia ferropénica la existencia de un sangrado oculto. De hecho se han llegado a detectar hasta en un 25-54% de los pacientes adultos diagnosticados de EC con cifras de 26% en niños con EC, aunque otras publicaciones sugieren que la presencia de sangrado oculto es menos importante. En cualquier caso esta pérdida hemática termina respondiendo a la dieta sin gluten.

La anemia ferropénica se manifiesta con microcitosis, hipocromia, niveles bajos de hierro y ferritina en sangre, y cifras elevadas de transferrina. El tratamiento de la anemia ferropénica consiste en la dieta sin gluten y en la suplementación con hierro (que se defiende no debe hacerse hasta pasados 6 meses del inicio de la dieta para que haya dado lugar a una recuperación parcial de la mucosa.) Hay que tener presente que puede ser necesario hasta un año para que la cifra de hemoglobina se recupere y hasta 2 años para la de ferritina(10).

#### b. Déficit de ácido fólico.

Unas cifras adecuadas de ácido fólico son necesarias para la hematopoyesis y para el desarrollo normal del sistema nervioso. Se absorbe principalmente en el yeyuno y su malabsorción es frecuente en enfermedades del intestino delgado. En pacientes con EC se han descrito bastantes casos de déficit de ácido fólico, aunque en muchas ocasiones no suele llegar a manifestarse con anemia. Normalmente se presenta con una anemia macrocítica y megaloblástica con anormalidades de las otras series sanguíneas (leucopenia y trombocitopenia). El déficit concomitante de hierro puede provocar una

manifestación atípica y pacientes con déficit de fólico y vitamina B12 pueden presentarse sin la típica macrocitosis.

Su diagnóstico es complejo ya que no existe un método del todo fiable y además el déficit de folato suele ir unido a otros déficits nutricionales o a problemas de malabsorción. Por esta razón es útil conocer las distintas etapas que se producen en el desarrollo de una anemia por déficit de ácido fólico:

- Etapa 1. Hay una carencia de folato en sangre ( $<3$  mcg/l) que suele aparecer tras 1-3 semanas de déficit de ingesta aunque puede tardar hasta 2 meses. Las cifras de folato intraeritrocitario son normales. Se considera una situación de balance negativo de folatos
- Etapa 2. Se van agotando las reservas corporales de folatos, por lo que caen los valores de folatos intraeritrocitarios ( $<160$  mcg/l). Puede existir una ligera elevación de la homocisteína.
- Etapa 3. Se producen alteraciones en la producción de la eritropoyesis. Hay una elevación considerable de la homocisteína.
- Etapa 4. Se obtienen datos en la analítica de una anemia megaloblástica(12).

Por todo esto, el diagnóstico clínico se realiza normalmente midiendo las cifras de fólico en plasma y en los eritrocitos. Las cifras de folato en sangre son altamente dependientes de la ingestión oral y además se encuentra frecuentemente elevado en pacientes con déficit de vit B12, por ello se recomienda determinarlo antes de comer o de realizar una transfusión sanguínea durante un ingreso hospitalario, ya que en estos casos fácilmente se normaliza. Hay que tener presente que esta gran influencia que la dieta tiene sobre el ácido fólico también hace que si la ingesta no es adecuada, en pocos días puede observarse un descenso en sus niveles a pesar de presentar en principio unos depósitos adecuados. El folato eritrocitario no es específico del déficit de folato, pero es menos influenciado por la dieta, y parece el indicador más fiable, aunque también se puede encontrar disminuido en pacientes con déficit de vitamina B12 y puede presentar problemas de interpretación. Así, se defiende que cifras plasmáticas de folato  $> 4$  ng/ml descartan la existencia de un déficit de folato; mientras que cifras  $< 2$  ng/ml en ausencia de una enfermedad previa o un periodo de ayuno prolongado hablan de un déficit de folato. La determinación de los niveles de fólico intraeritrocitario se suelen reservar para pacientes con niveles dudosos (2-4 ng/ml), en aquellos pacientes que se sospeche un déficit combinado de ácido fólico y vitamina B12 o en aquellos pacientes en los que los niveles de folato no puedan ser fácilmente medidos. En estos casos, la

determinación de cifras elevadas de homocisteína, junto con un metilmalónico urinario normal también pueden ayudar al diagnóstico de déficit de folato. La existencia de valores elevados de los dos metabolitos reflejan un déficit de vitamina B12 (cobalamina), ya que el ácido fólico no interviene en el metabolismo del metilmalónico.(6, 12)

El tratamiento consiste en la dieta y en la suplementación con ácido fólico (1-5 mg/día, durante 1 – 4 meses) ya que los alimentos sin gluten son muchos de ellos bajos en ácido fólico como en otras vitaminas. (10, 13)

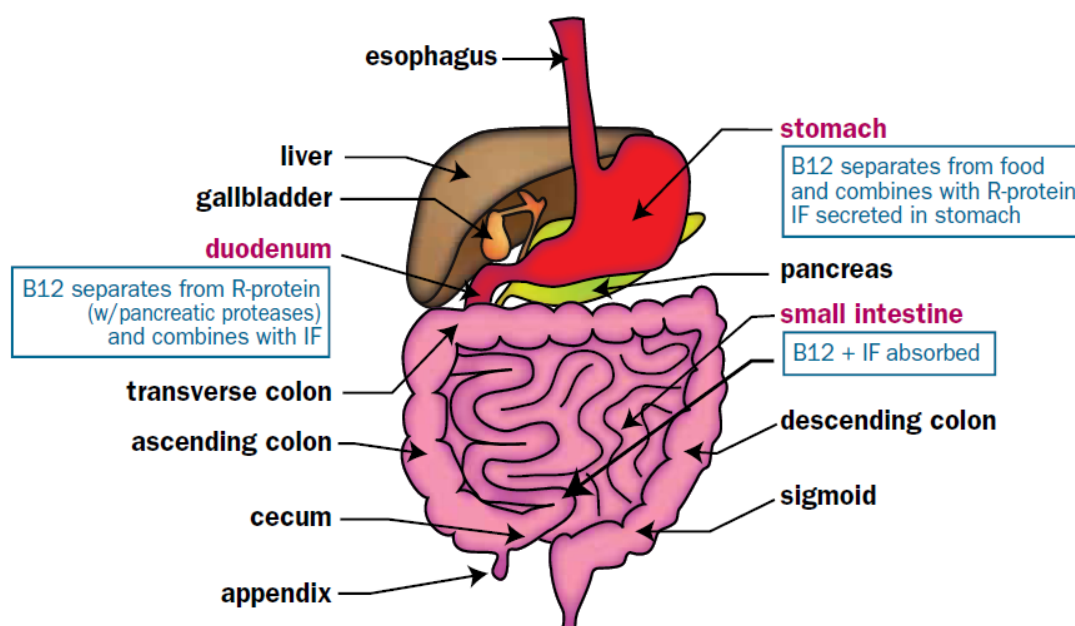
### c. Déficit de vitamina B12.

Se ha llegado a encontrar déficit de vitamina B12 hasta en 8-41% de pacientes con EC. Hay que tener presente que este déficit no suele ser único si no que normalmente se acompaña de déficit de vitamina B6 y ácido fólico y puede dar lugar a anemia.(10, 11) Por otro lado, estas vitaminas son necesarias para el metabolismo de la homocisteína, cuyos valores elevados se han relacionado como un factor de riesgo cardiovascular (ateroesclerosis y trombosis venosa profunda recurrente), abortos, depresión y de fracturas por osteoporosis.(11, 14, 15) La causa del déficit de vitamina B12 no es conocida. Debido a que la absorción es principalmente a nivel ileal (zona no muy afectada en teoría en la enfermedad celiaca) no se conoce exactamente el porqué de este déficit. Se postula una disminución de la secreción ácida, sobrecrecimiento bacteriano, un déficit en el aporte en la dieta sin gluten, gastritis autoinmune, alteraciones en la unión con el FI en el intestino o alteraciones en la función del íleon como posibles causas. (Ilustración 3)

La valoración del estado nutricional de la vitamina B12 se puede realizar de diferentes maneras, aunque no existe un método de referencia. Además, la interpretación de las cifras de vitamina B12 puede ser complicado en los casos de déficit de ácido fólico concomitante o cuando aparecen cifras en rango bajo de la normalidad ya que se ha demostrado una gran variabilidad en los valores normales en un mismo sujeto. La determinación de las cifras de vitamina B12 plasmáticas refleja de manera tardía la deficiencia. En general cifras > 300 pg/ml se interpretan como normales, cifras 200-300 pg/ml como dudosas y cifras <200pg/ml son indicativas de déficit de vitamina B12. Cifras elevadas de ácido metilmalónico urinario pueden ayudar al diagnóstico. Por último la determinación de holotranscobalamina también parece un aceptable marcador de déficit de vitamina B12, ya que es la proteína circulante que libera

vitamina B12 y disminuye antes que lo haga la vitamina B12. Otra prueba es la realización de un test de Schilling que mide la absorción de la vitamina B12 aunque no sus depósitos. En resumen podemos decir que una persona que presente un déficit de vitamina B12 pasa por cuatro fases: 1.- depleción sérica de holotranscoblamina (holo-TCII); 2.- depleción celular (descenso de holohaptocorrina y de la vitamina B12 en los hematíes); 3.- deficiencia bioquímica (disminución de la velocidad de síntesis de ADN, así como la elevación de homocisteína y metilmalónico séricos; 4.- deficiencia clínica: se manifiesta con anemia.(12)

La correcta realización de una dieta sin gluten corrige el déficit de vitamina B12 y ácido fólico y conlleva la disminución de los niveles de homocisteína. Hay autores (15, 16) que defienden que en caso de déficit se realice terapia con vitamina B12 parenteral (aunque hay estudios(13) que defienden la utilidad de la vía oral), ya que se postula que las dietas sin gluten pueden ser deficitarias en estos elementos(10). Cuando se realiza esta suplementación una precaución a tener es valorar la suspensión del tratamiento con IBPs ya que pueden disminuir la absorción de la vitamina B12.



**Ilustración 3. Digestión y absorción de la vitamina B12.** Las cobalaminas unidas a proteínas alimentarias necesitan ser liberadas gracias al ácido clorhídrico gástrico y la pepsina para unirse después con otras proteínas (proteína R) procedentes de la saliva y del jugo gástrico. Posteriormente la vitamina B12 se libera de estas proteínas gracias a las enzimas pancreáticas y se une al factor intrínseco de Castle (secretado por las células parietales gástricas principalmente). El lugar de absorción principal es a nivel del íleon terminal unido al factor intrínseco, aunque una pequeña parte se absorbe a lo largo del intestino delgado. Tomado de Ref. (13)

Lo que si se ha demostrado es que la suplementación hace que se corrijan mejor las cifras y disminuyan las cifras de homocisteína frente aquellos que no la realizan (incluso

en pacientes que no se recuperan de la atrofia). Otro aspecto a reseñar es que las cifras de homocisteína además de tener relación con la ingesta de vitamina B6, B12 y ácido fólico, tienen una relación directa con el grado de atrofia en el momento del diagnóstico (una atrofia mayor conlleva unas cifras de homocisteína más elevadas). (10, 11, 13)

d. Trombocitopenia y trombocitosis.

La trombocitopenia se ha descrito en raros casos en pacientes con EC y suele tener un origen autoinmune. La trombocitosis aparece hasta en el 60% de los casos. Su etiología no está clara aunque parece deberse a mediadores inflamatorios, o en algunos casos, a déficit de hierro o a hipoesplenía funcional. Esta trombocitosis puede resolverse con la instauración de la dieta sin gluten.(10)

e. Leucopenia/neutropenia.

Son raras. El déficit de fólico se ha presentado como posible causa.(10)

f. Tromboembolismo arterial y venoso.

La hiperhomocistinemia es una alteración que se ha encontrado hasta en un 20% de los pacientes con EC recién diagnosticada y que se ha relacionado con la tendencia de la formación de trombos. Junto a ella se han descrito niveles elevados del TAFI (thrombin-activate fibrinolysis inhibitor) que se ha asociado a la aparición de tromboembolismos. También se han descrito disminución de los niveles de proteína S, proteína C como causantes de la trombosis. (10)

g. Hiposplenismo.

La prevalencia de hiposplenismo en pacientes con EC no se conoce bien. Se han publicado prevalencias del 21-60%. El diagnóstico puede realizarse con la determinación de eritrocitos con membrana “hundida” >2-4% aunque es un método laborioso. La detección de cuerpos de Howell-Jolly o acantocitos puede ayudar a su detección aunque no en casos leves. El hiposplenismo suele ser más común cuando la EC coincide con otras enfermedades autoinmunes (se han encontrado positividad a

ANA, antimúsculo liso o antimitocondriales) o cuando la EC se presenta con complicaciones como linfomas, EC refractaria o yeyunitis refractaria. La adherencia a la dieta sin gluten se ha descrito como útil para la corrección del hipoesplenismo, aunque hay publicaciones que lo contradicen. No se conoce el riesgo infeccioso de los pacientes con hipoesplenismo, por lo que no se sabe si se deben vacunar frente a bacterias encapsuladas, aunque esta parece la postura más razonable.(10)

### 3.2 Déficits nutricionales

La existencia de déficits nutricionales en los pacientes celiacos se conoce desde hace tiempo. Así se ha demostrado que tienen niveles más bajos de hierro, ácido fólico, vitamina B12, prealbúmina, peso y contenido de grasa y unas cifras más elevadas de transferrina. Hay datos contradictorios sobre la posibilidad de que los niveles de estos déficits puedan estar en relación con el grado de lesión histológica.(17, 18)

Hay también estudios que muestran el déficit en las cifras de Magnesio (19). En los casos de EC típica las causas del déficit de Mg parecen ser el paso acelerado de los alimentos por el tubo digestivo, la esteatorrea y la escasa ingesta debido a la falta de apetito. De todos modos hay también datos que hablan del déficit de Mg en pacientes con EC con dieta sin gluten que parece deberse a que una fuente importante de Mg son los cereales que estos pacientes tienen restringidos en gran parte. (19)

Tabla 1. Déficit nutricionales comunes en la enfermedad celiaca. Tomado de Ref (20)			
Al diagnóstico	Dieta sin gluten	Productos sin gluten	Dieta sin gluten a largo plazo
Calorías/proteínas			
Fibra	Fibra	Fibra	Fibra
Hierro	Hierro	Hierro	
Calcio	Calcio		
Vitamina D	Vitamina D		
Magnesio			
Zinc			

Folato, niacina, vitamina B12, riboflavina	Folato, niacina, vitamina B12, riboflavina	Folato, tiamina, riboflavina, niacina	Folato, niacina, Vitamina B12
--	--	---------------------------------------	-------------------------------

Una de las razones expuestas para la existencia de déficit nutricionales en los pacientes celiacos es que los productos sin gluten sin enriquecer suelen ser bajos en fibra, hierro, folato, tiamina, riboflavina y niacina; mientras, los productos con gluten suelen estar enriquecidos (la mayoría de las veces de una manera indirecta) con esos elementos.(21, 22) A esto hay que unir que hay pacientes que adicionalmente presentan sensibilidad a otros alimentos u otras intolerancias que pueden limitar aún más su dieta. (Tabla 1)

La idoneidad de la dieta sin gluten también ha generado controversia. Así, hay estudios que muestran que la ingesta diaria de una dieta sin gluten en niños celiacos conllevaba un desbalance dietético mayor que los niños de la misma edad que seguían una dieta con gluten (Tabla 2). Los datos son contradictorios, así junto a publicaciones que hablan de una mayor prevalencia de niños con sobrepeso y obesidad (72%) entre los niños con dieta sin gluten que los que no la siguen (47%), que podría deberse a una mayor ingesta de grasas y proteínas en los niños celiacos que siguen la dieta sin gluten. (18-20, 23-25), hay otros autores que muestran un peso, ingesta calórica e IMC más bajos entre los pacientes que siguen una dieta sin gluten en comparación con sujetos sanos.(23, 26)

Kinsey et al., analizó la ingesta diaria de un grupo de pacientes celiacos y encontró que existía una ingesta deficitaria en energía, lípidos, fibra, hierro, calcio y de “cereales”, siendo estos déficit más marcados en el caso de las mujeres, estando aumentada la ingesta de proteínas (Tabla 3-4). Dichos resultados no han podido ser confirmados en otros estudios que a diferencia del de Kinsey et al, encuentran en los celiacos una ingesta calórica inferior a la población sana con ingestas de hierro y folatos normales. (27).

Existen autores que defienden que una vía para prevenir estos déficits está en permitir la ingesta de avena (<50 gr/día) en la dieta de los celiacos bajo un estricto control de la cantidad y de la pureza de la avena ingerida, aunque esto como se verá más adelante, es controvertido debido a las dudas acerca de la seguridad de la avena en la dieta del celiaco. (22, 27)

Tabla 2. Resumen de evidencia en relación a la ingesta de macronutrientes en pacientes con EC. Tomado de Ref. (27)			
Autor y fecha	Muestra	Registro de dieta	Resultados
Bjorkman et al (1985)	30 celíacos	Entrevista dietética y cuestionario	Menor ingesta de energía, grasa y carbohidratos en la celíacos que en controles
Kemppainen et al (1995)	92 celíacos / 77 controles	Registro de 4 días	25% EC consumen menos energía que los controles. Grasas y carbohidratos: mayor ingesta en celíacos que en controles
McFarlane et al (1995)	54 celíacos / 54 controles	Registro de 10 días	Menor ingesta de energía que las EAR
Bardella et al (2000)	71 celíacos / 142 controles	Registro de 3 días	Menor ingesta de energía, carbohidratos en los celíacos que en controles. Mayor ingesta de grasas en celíacos
Capristo et al (2000)	39 celíacos / 63 controles	Registro de 7 días	Ingesta mayor de energía, grasas y carbohidratos en celíacos que en controles
Grehn et al (2001)	49 celíacos / 498	Registro de 4 días	Ingesta energía



	controles		similar en ambos grupos.
EAR: estimated average requirement			

Tabla 3. Media de ingesta en paciente con EC comparadas con la población general. Tomado de ref. (27)

Ingesta diaria (DS)	Hombres		Mujeres	
	Celíacos	Sanos	Celíacos	Sanos
Energía (Kcal)	1754 (403)	1632 (418)	2039 (124)	2313 (582)*
Proteínas (g)	83 (24)	64 (17)*	77 (10)	88 (33)*
Grasas (g)	64 (20)	61 (21)	69 (11)	87 (29)*
Carbohidratos (g)	219 (65)	203 (59)	262 (31)	275 (79)
Folatos (mcg)	251 (120)	251 (90)	258 (68)	344 (127)*
Vitamina B12 (mcg)	7 (10)	4,8 (2,7)	5,1 (1,5)	6,5 (4,8)
Vitamina D (mcg)	2,7 (2,07)	3,7 (2,3)*	3,1 (3)	2,8 (2,1)
Hierro (mg)	9,9 (3,3)	10 (3,7)*	11,7 (5,5)	10 (3,7)
Calcio (mg)	807 (283)	777 (269)	1076 (207)	1007 (411)

DS: Desviación standart

\*p<0'05

Tabla 4. Porcentaje de ingestión de energía y carbohidratos, lípidos y proteínas en pacientes con EC comparada con el NDNS (National Diet and Nutrition Survey's) y las DRV (Dietary Reference Values). Tomado de ref. (27)

Media (%)	Celíacos	Encuesta nacional (NDNS)	Valor dietario de referencia (DRV)
% Energía de carbohidratos	49	48	50
% Energía de	31	35*	35*

grasas			
% Energía de proteínas	18	16	15*
*p<0'05			

La ingesta de folato, vitamina B6 y vitamina B12 también parece deficiente en pacientes que siguen una dieta sin gluten de manera significativa. Como se ha comentado anteriormente, se ha visto que comparados con controles, las personas que siguen una dieta libre de gluten muestran unos niveles bajos de magnesio, folato, vitaminas B6 y B12, aunque la anemia perniciosa es inusual en la EC.(20, 26) Estos déficits se unen con unas cifras de homocisteína elevadas que están en relación con un aumento del riesgo cardiovascular. El origen del déficit de estas vitaminas se defiende por un déficit en la ingesta de frutas o verduras que las contienen. (26) También se ha demostrado una mayor ingesta de grasas saturada y una menor de fibra y hierro.(25)

La suplementación con vitaminas y minerales puede ser útil en los pacientes con dieta sin gluten, aunque no hay estudios que señalen totalmente su importancia (20, 27). Se ha demostrado que la suplementación con estas vitaminas en los pacientes celiacos hace que aumenten sus niveles sanguíneos de una manera significativa frente aquellos pacientes celiacos que no reciben suplementación, lo que conlleva así mismo con un descenso en las cifras de homocisteína incluso por debajo de sujetos sin enfermedad celiaca (13, 16).

### 3.3. Repercusión en los índices antropométricos.

La afectación antropométrica al diagnóstico de la enfermedad celiaca es de las manifestaciones más presentes en todas las series de celiacos en la edad pediátrica. Está demostrado que los pacientes celiacos presentan cifras de peso, edad ósea e IMC menores que sujetos sanos, sin encontrar relación entre la edad del diagnóstico y el grado de afectación de estos parámetros. Tras la instauración de la dieta sin gluten, el IMC suele ser lo primero en recuperarse en el primer año de dieta sin gluten, aunque se defiende que no termina de ocurrir el “catch up” recuperador hasta pasados 3 años del inicio del tratamiento. La edad ósea en cambio tarda más en recuperarse, necesitando 3 años o más incluso, no alcanzando cifras de normalidad en muchos casos. Dicha

circunstancia puede condicionar un retraso en el crecimiento, que en ocasiones pueda aparejar no alcanzar la edad diana determinada genéticamente a pesar de realizar una dieta correcta.

La gran variabilidad en el crecimiento de los pacientes celíacos se debe a distintos factores como la edad de diagnóstico, la duración y adherencia a la dieta sin gluten, la edad de la pubertad, el potencial genético de crecimiento, y la severidad de la expresión de la enfermedad celíaca.(28)

La causa de que pacientes celíacos que realizan correctamente la dieta no logren su talla diana se desconoce, aunque se piensa que puede estar en relación con déficits nutricionales, alteraciones en el eje de la hormona de crecimiento o por factores inmunes.(23, 28)

#### 4. Osteopatía

La osteopatía es una de las manifestaciones menos controladas y estudiadas en los pacientes celíacos. Aún así se ha demostrado que existe una marcada reducción de la densidad mineral ósea (DMO) en niños, adolescentes y adultos sin tratar, en hasta el 70% de los pacientes celíacos, sin tener en cuenta la clínica de presentación. Junto a ello se han encontrado otros datos que hablan de la osteopatía existente como la presencia de déficits de calcio, magnesio y vitamina D en el 41%, 12% y 32% respectivamente de los pacientes celíacos con unas cifras de PTH elevadas en el 53% (29). Una dieta sin gluten promueve un rápido incremento en la DMO que puede permitir una recuperación completa de la mineralización en niños. La recuperación de la DMO suele ocurrir en el primer año de tratamiento sin gluten, aunque existen más dudas de cuánto es realmente el tiempo necesario para “normalizar” la DMO existiendo estudios que la cifran en más de 2 años de dieta sin gluten (29, 30). En adultos en cambio, el tratamiento dietético incrementa pero en pocas ocasiones normaliza la DMO. Como resultado de todo esto, los adultos con EC presentan un riesgo del 27% de mayor riesgo de fracturas con respecto a la población general, incluso después de seguir una dieta libre de gluten durante años. La razón de esta respuesta “parcial” al tratamiento no está clara aún, aunque un factor importante parece ser que no es posible alcanzar el pico de mineralización ósea una vez sobrepasada determinada edad. (13, 29, 31-33)

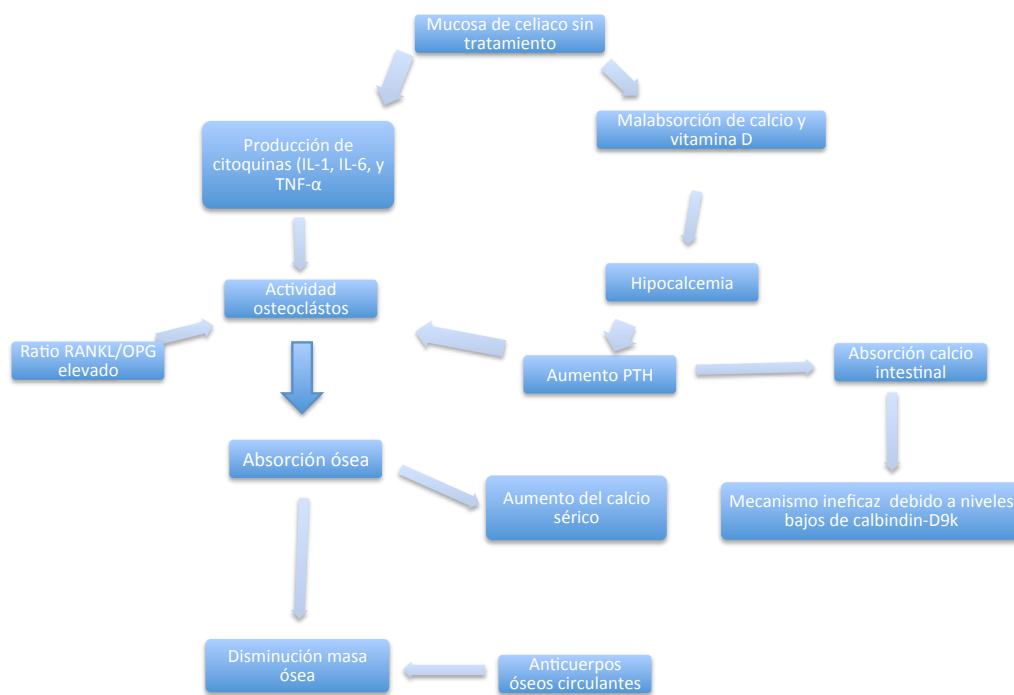
## 4.1 Fisiología.

### a. Malabsorción

La desmineralización en la EC tiene una patogénesis multifactorial, en la que tanto mecanismos sistémicos como locales juegan un papel. Las lesiones a nivel de la mucosa intestinal ocasionan la malabsorción de calcio y de vitamina D(32, 34). La relación entre osteopenia y enfermedad celiaca es tal que hay autores que defienden el screening de la enfermedad celiaca en todos los paciente que presenten osteopenia u osteoporosis. (29)

La vitamina D regula la absorción intestinal de calcio estimulando la formación de proteínas específicas que transportan el calcio desde los enterocitos. Por otra parte, existen otros mecanismos que pueden contribuir a la incapacidad para la absorción de calcio, como el déficit de lactasa secundaria que existe en la EC y que provoca un descenso en el calcio absorbido procedente de la dieta; o la unión del calcio a ácidos grasos no absorbidos a nivel de la luz intestinal. (20, 32, 34)

Por otro lado, la hipocalcemia provoca una hipersecreción de PTH. Diversos autores han encontrado hiperparatiroidismo entre 12-54% de los niños con EC en el momento del diagnóstico, con cifras de PTH que multiplican hasta en tres veces la de sujetos normales(35). Este hiperparatiroidismo secundario se ha encontrado también en un 27% de los adultos con EC en el momento del diagnóstico. La PTH promueve la resorción ósea y contribuye a incrementar la absorción intestinal de calcio a través del estímulo del transporte activo vitamina D-dependiente. (31, 34, 36, 37) Sin embargo, los pacientes con EC presentan una disminución de las proteínas transportadores vitaminaD-dependientes de calcio (calbindin-D9k), que se encuentran en cifras casi indetectables en los sujetos con EC sin tratar y en cantidades alrededor de un cuarto del valor normal en sujetos sanos. Debido a todo esto, el hiperparatiroidismo secundario existente en sujetos con EC tiende a causar un intenso catabolismo óseo en algunos pacientes. Esta característica es común en pacientes diagnosticado de novo de EC y en aquellos con EC refractaria, pero es menos frecuente en pacientes que responden a la dieta libre de gluten. (Ilustración 4) (35)



**Ilustración 4. Posibles mecanismos implicados en la desmineralización ósea en la enfermedad celiaca no tratada. Modificado de Ref (33)**

b. Cambios inmunológicos e inflamatorios.

Existen cambios inflamatorios e inmunológicos que pueden contribuir a la producción a nivel óseo de citoquinas proinflamatorias. Altos niveles de citoquinas que actúan sobre los osteoclastos (IL1, IL6 y TNF-alfa) han sido encontrados en individuos sin tratar de EC, así como bajos niveles de citoquinas que juegan un papel importante inhibitorio (IL 18 e IL 12). En pacientes sin tratar, los niveles de IL6 se correlacionan inversamente con los valores de la DMO a nivel lumbar y directamente con los niveles de PTH y telopeptidos del colágeno tipo I (marcador de resorción ósea). Las alteraciones en la cifras de las mencionadas citoquinas tienden a normalizarse en los pacientes que se adhieren a una dieta sin gluten. (32, 35, 37-39)

Otra interesante observación es que al momento del diagnóstico, el 51% de los pacientes con EC presentan Ac del tipo IgA frente a estructuras de la tibia de feto de rata. Esto indica que esos Ac pueden al menos ser un cofactor en la patofisiología del daño óseo en los pacientes con EC. (32)

## 4.2 Riesgo de fractura.

Existen diversos estudios que valoran el riesgo de fractura en pacientes celíacos en comparación con pacientes no celíacos, dando valores en torno al 21%-42% frente al 3%-14%, con un riesgo de fractura que puede multiplicar x3 al de una persona no celíaca. (33, 37, 38, 40)

Existen evidencias que los niños con una DMO baja tienen un mayor riesgo de fracturas. Así diferentes estudios estiman un riesgo dos veces superior de fractura en niños por cada -1SD de DMO encontrada y un aumento del riesgo de fractura cuando el z-score es inferior a -2 (41). Por el contrario, en los pacientes con EC, la densitometría no parece ser un buen predictor de fracturas ya que existen estudios que no han encontrado diferencias significativas en las cifras de T-score o Z-score entre pacientes con o sin historia de fractura ósea. De todos modos, la osteoporosis es uno de los factores más importantes que predisponen para una fractura. Los factores de riesgo para las fracturas en EC no se han descrito aún, pero se piensa que influyen la no realización de dieta sin gluten, el tratamiento con esteroides, el hipogonadismo no tratado, la edad, el índice de masa ósea, y la existencia de fracturas previas por fragilidad. (32, 33, 42)

## 4.3 Manejo de la pérdida ósea en los pacientes con EC.

La hipocalcemia, los niveles bajos de vitamina D, la baja formación ósea, los marcadores de resorción elevados y una DMO baja son encontrados frecuentemente en pacientes con EC como se ha comentado.

### a. Impacto de una dieta sin gluten en la masa ósea de niños y adolescentes.

Tras el inicio de una dieta sin gluten se ha demostrado una mejoría en la absorción de calcio a nivel intestinal, con resolución de los parámetros bioquímicos alterados. Esto condiciona un rápido incremento en la DMO, que permite en algunos casos una completa resolución de la mineralización ósea tras 1 año de dieta, aunque hay estudios que indican que algunos pacientes pueden precisar hasta 4 años. Estos efectos se mantienen hasta la edad adulta mientras que la dieta se cumpla. En cambio si durante la adolescencia existe una mala adhesión a la dieta se puede instaurar una osteopenia

que perdura durante la edad adulta. Esto también se ha visto en pacientes diagnosticados en la adolescencia, los cuales pueden tardar más en alcanzar el pico de mineralización óseo o no alcanzarlo nunca. Por lo tanto es importante realizar el diagnóstico antes de la pubertad para evitar esta osteopenia en la edad adulta. (20, 31-34, 36, 38, 39, 42, 43)

b. Impacto de la dieta sin gluten en la edad adulta.

Diferentes estudios han demostrado que alrededor de un 30-40% de los adultos con EC, tanto tratado como no tratados, presentan osteopenia y que un 30% presenta osteoporosis. (32)

Se ha visto que en adultos, 1 año de dieta sin gluten, mejora la DMO incluso en mujeres postmenopáusicas y pacientes con recuperación incompleta de la mucosa. Sin embargo, rara vez se logra la completa restauración de la DMO para la edad del paciente. Existen estudios que indican que la restauración es posible si la dieta sin gluten se instaura antes de los 25 años. (32, 39, 42, 43)

Esta discrepancia entre los efectos de la dieta sin gluten en adultos y en niños puede deberse al hecho de que los adultos sufrieran la enfermedad durante el periodo de su vida en el cual se alcanza el pico de masa ósea y que este no se haya logrado. La exposición durante largos periodos de tiempo al gluten en un paciente celiaco provoca una alteración del metabolismo óseo con estimulación crónica de la glándula paratiroides que provoca una hiperplasia de la misma que no responda a la dieta sin gluten. Otra explicación posible es que la dieta de los adultos celiacos sea más pobre en calcio que la de los pacientes infantiles.

En estos pacientes se deben de investigar otras causas de osteoporosis, así como indicar una dieta rica en calcio, y la realización de ejercicio físico. (31-34)

c. Ingesta diaria de calcio y vitamina D.

Se estima que la ingesta de calcio en un paciente celiaco debe ser de al menos 1500 mg/día. Existen pocas investigaciones acerca de la adecuación nutricional de la dieta sin gluten. Encuestas dietéticas han revelado que pacientes con una dieta sin gluten consumen a menudo cantidades inferiores a las recomendadas de calcio y vitamina D

(76-88% de los niños; un 85% de los adolescentes; 63% en adultos varones y 31% en mujeres adultas). (32, 33, 35).

Fuentes de calcio y vitamina D, son la mayoría de los lácteos, tofu, judías, salmón, sardinas, espinacas, col, brócoli, huevos, margarina, yogurt, cereales para el desayuno y algunas bebidas. Hay que tener presente que algunos sujetos presentan intolerancia a la lactosa secundaria que por un lado interfiere en la absorción de calcio, y por otro provoca un descenso en la ingesta de lácteos (fuente principal de calcio) por lo que puede ser recomendable la suplementación en estos casos. Se ha demostrado que 2 años de suplementación con calcio (1g/día) y vitamina D (400 UI/día) incrementa la DMO en adolescentes y niños con EC, aunque no se ha investigado los valores para sexo y edad equivalentes de la población control. (32, 34, 36)

#### 4.4 Prevención y tratamiento de la pérdida ósea en los pacientes celíacos.

La instauración de una dieta sin gluten tras el diagnóstico es esencial para la prevención y el tratamiento de la pérdida ósea en los pacientes celíacos. Existen estudios como el de Blazina et al, que comparan los valores de DXA entre un grupo de celíacos ya diagnosticados con una correcta cumplimentación de la dieta y otro grupo con un mal control y muestra diferencias entre ellos (-0'12 vs. -0'74,  $p=0'001$ )(44), lo cual demuestra la importancia de llevar a cabo la dieta sin gluten.

Actualmente, la determinación de la DMO, niveles de calcio sérico, fosfatasa alcalina y PTH es recomendable al diagnóstico. (31, 32, 38) Por otro lado, se ha visto que las cifras de fosfatasa alcalina específica ósea son más bajas al diagnóstico elevándose gradualmente tras la instauración de la dieta sin gluten, por lo que puede ser otro valor a considerar en el diagnóstico y el seguimiento (38).

Además se debe vigilar una adecuada ingesta de calcio y vitamina D en la dieta. En los casos de niveles de calcio bajos, se sospeche malabsorción o la ingesta de calcio sea baja, se recomienda la suplementación con calcio (1g/día). En los casos de osteoporosis en mujeres postmenopausicas, puede proponerse el tratamiento con bifosfonatos, hormonas sustitutivas o calcitonina. En adultos, junto estas medidas se ha establecido que se debe promover la realización de ejercicio y evitar el alcohol y el tabaco. (32)

La relación inversa, pacientes con osteopenia u osteoporosis que son celíacos también se ha investigado ofreciendo una prevalencia de un 2-3%. La necesidad de un screening de celiaquía en los pacientes con osteoporosis tiene defensores(29), existiendo algoritmos de



decisión para adultos publicados(45), aunque en general lo más extendido es que, debido a las bajas cifras de prevalencia existentes, no se justifique un screening de la EC a todo paciente con osteopenia pero sí que se tenga en cuenta como una posible causa de la misma, y por tanto que el clínico lo tenga presente a la hora de hacer una búsqueda de la causa de la afectación ósea (45-47).

## 5. Enfermedades asociadas.

La enfermedad celiaca se asocia a enfermedades autoinmunes y otras no autoinmunes. (Tabla 5)

Tabla 5: Enfermedades asociadas a la enfermedad celiaca

DM tipo 1

Tiroiditis autoinmune

S Down

S. Turner

S. Williams

Déficit de IgA

Esta asociación hace que esté indicado el screening de enfermedad celiaca en aquellos pacientes que presenten alguna de estas enfermedades así como en familiares de primer grado de un individuo afecto. (7) Se ha estimado que el riesgo de padecer la enfermedad entre los familiares de primer orden de un sujeto afectado alcanza el 25% (5) El seguimiento de un familiar con una primera serología negativa es aún incierto. Hay estudios que determinan que menos del 0'5% de este grupo de sujetos desarrollarán Ac antitransglutaminasa (5).

Entre los tumores asociados a la enfermedad celiaca encontramos la enteropatía asociada a linfoma T intestinal (asociada al desarrollo de enfermedad celiaca refractaria como se verá más adelante), linfomas no Hodgkin como el linfoma de células B o el linfoma folicular (11). El riesgo de padecer algunos de estos tumores se estima que es entre 2,1-6,6 veces mayor que el de la población sana, aunque este riesgo parece disminuir en los pacientes que siguen una dieta sin gluten.(10) La enfermedad celiaca también se ha asociado al adenocarcinoma de intestino delgado, carcinoma de esófago, carcinoma de orofaringe, cáncer de pulmón y cáncer de colon(11).

### 5.1 Déficit de IgA.

Aproximadamente el 2-3% de los pacientes con EC presentan déficit de IgA, y hasta un 8% de los individuos con déficit de IgA pueden ser celíacos. Se sabe que los sujetos con déficit de IgA tienen hasta 10 veces más riesgo de ser celíacos, y la prevalencia de déficit de IgA entre los pacientes celíacos es 10-16 veces mayor que en la población normal. La importancia de esta asociación es triple: el déficit de IgA puede influir en el desarrollo de otras patologías enterales como la EII o infecciones parasitarias (especialmente la Giardiasis); los pacientes con déficit de IgA tienen riesgo de sufrir reacciones anafilácticas al recibir una transfusión con Ac-AntiIgA; la existencia de un déficit de IgA puede ocasionar falsos negativos en el caso de realizarse únicamente determinación de Ac IgA ATG o AG. (10)

### 6. Diagnóstico.

La biopsia intestinal sigue siendo la prueba de referencia para el diagnóstico de la enfermedad celíaca. La realización de la misma suele estar supeditada a la sospecha de enfermedad celíaca en base a la clínica y a la existencia de anticuerpos IgA o IgG antitransglutaminasa o antigliadina en sangre. La determinación de estos anticuerpos puede ser muy útil, principalmente en aquellos individuos oligo o asintomáticos. La sensibilidad de los IgA antigliadina en niños está entre el 52-100%, mientras que su especificidad es del 92-97%. La sensibilidad de los anticuerpos IgG antigliadina es similar a los IgA, pero su especificidad es menor (aproximadamente 50%). Se han descrito falsos positivos en otras patologías como esofagitis, gastritis, gastroenteritis, enfermedad inflamatoria intestinal, fibrosis quística o alergia a proteínas de leche de vaca. (1, 2, 4, 7) Los anticuerpos IgA antitransglutaminasa presentan una sensibilidad en niños del 92-100% y una especificidad del 91-100%. La sensibilidad y la especificidad de los anticuerpos IgG antitransglutaminasa es del 84-97% y del 91-99% (4) respectivamente. Esto hace que sean los anticuerpos de elección actualmente para la búsqueda de posibles afectos de celiaquía. La presencia de Anticuerpos antitransglutaminasa positivos y antiendomio positivos hace aumentar la posibilidad de presentar una atrofia intestinal (1, 2, 7). De hecho, en manos expertas la positividad de los anticuerpos antiendomio tiene un valor predictivo positivo mayor que la positividad en algunos de

los otros anticuerpos (2)- En los casos de déficit de IgA, la determinación de IgG antitransglutaminasa se considera más útil que los IgG anti gliadina; aún así, en los casos con sospecha clínica se defiende la realización de la biopsia intestinal aún con niveles de anticuerpos normales, ya que se han llegado a dar casos de fluctuaciones en los valores de los Ac pasando de cifras normales a claramente patológicas (1, 2, 6). Las últimas recomendaciones de la ESPGHAN indican hacer el cribado con la determinación de IgA antitransglutaminasa y la realización de otros anticuerpos en casos seleccionados (edad <2 años, consumo de gluten restringida, síntomas graves, predisposiciones familiar o medicación inmunosupresora). (2)

La presencia del HLA DQ2 – DQ8 aumenta la susceptibilidad a padecer la enfermedad celiaca. El DQ2 aparece en el 86-100% de los pacientes, que se presenta en unión con el DR3 y DR5/7. La existencia de DQ2 en homocigosis se ha asociado con una aparición temprana de la enfermedad. En aquellos pacientes que no presentan el DQ2 (5% aprox.), el HLA presente es el DQ8 que también se encuentra en desequilibrio de unión con DR4. De todos modos la existencia de DQ2 o DQ8 presenta una alta sensibilidad (>99%) pero una baja especificidad (<5%), por lo que proporcionan principalmente un alto valor predictivo negativo para la enfermedad. (1, 2, 6) Esto provoca que la ausencia de estos HLA en un paciente diagnosticado de celiaquía se defienda por algunos autores como indicativo de realizar una biopsia de control que compruebe el diagnóstico. Según las últimas recomendaciones de la ESPGHAN la determinación de HLA debe realizarse en los casos en los que exista un diagnóstico incierto de EC (por ejemplo en casos con Ac negativos y un infiltrado linfocitario en la muestra de la biopsia intestinal); cuando exista una fuerte sospecha clínica de EC con unos marcadores serológicos positivos pero no se pueda realizar una biopsia; y en los grupos de riesgo de padecer enfermedad celiaca previo a la realización de marcadores serológicos. (2)

La biopsia intestinal sigue siendo el patrón oro para el diagnóstico como se comentó anteriormente. La lesión parece que es más intensa a nivel proximal del intestino delgado que a nivel distal. (28)(18) Se recomienda realizar la toma de biopsia mediante endoscopia y coger 6 ó más biopsias de distintos cuadrantes del intestino delgado (al menos 1 del bulbo y 4 de la segunda o tercera porción duodenal) orientando la biopsia para facilitar su interpretación. (1-3, 6) La toma de distintas muestras se recomienda debido al carácter “parcheado” de la lesión en la enfermedad celiaca que puede provocar errores en el diagnóstico (1, 2, 6). Se ha comprobado que la toma de 3 biopsias

permite el diagnóstico correcto en el 95% de los casos, alcanzando el 100% con la toma de 4 biopsias. (5, 6) Otra precaución que debe tenerse es que la toma de biopsia se realice con al menos un mes de dieta con gluten (aunque los cambios histológicos pueden llegar a aparecer en 24 horas) con gluten (al menos 2-4 rebanadas de pan que equivalen a 10-20 g de gluten) (6)

La descripción anatomopatológica debe incluir la orientación, la presencia o no de vellosidades normales o el grado de atrofia y de elongación críptica, la relación cripta-vellosidad, el número de linfocitos intraepiteliales y el grado de atrofia según la clasificación de Marsh-Oberhuber. (2)

Los cambios histológicos encontrados varían desde leves a severos y se clasifican según la clasificación de Marsh (tabla 6). (5)

De todos modos, ninguna de las lesiones observadas son patognomónicas, pero la combinación de la clínica, serología e histología hace posible el diagnóstico en la mayoría de los casos. Los cambios característicos encontrados son: aumento de linfocitos intraepiteliales (>30 linfocitos / 100 enterocitos); aumento del índice mitótico linfocitario (>0'2%); disminución del tamaño de las células epiteliales; pérdida de la polaridad nuclear con pseudoestratificación; elongación de las criptas, parcial o total atrofia vellositaria (1, 2, 7)

---

Tabla 6. Clasificación de Marsh

- Tipo 0. Preinfiltrativa: no se diferencia histológicamente de una mucosa normal, si bien presenta altos títulos de anticuerpos antigliadina clase IgA e IgG en las secreciones intestinales (lesión propia de pacientes con EC latente o dermatitis herpetiforme).
  - Tipo 1. Infiltrativa: aumento de linfocitos intraepiteliales (LIE) con arquitectura vellositaria conservada.
  - Tipo 2. Hiperplásica: hiperplasia críptica y aumento de LIE.
  - Tipo 3. Destructiva: atrofia vellositaria con hiperplasia críptica. Existe una subdivisión, establecida por Oberhuber, en función del grado de atrofia vellositaria: 3a) atrofia vellositaria parcial; 3b) atrofia vellositaria subtotal; y 3c) atrofia vellositaria total.
  - Tipo 4. Hipoplásica: lesión atrófica irreversible de la mucosa, que
-

---

no responde a la dieta exenta de gluten, tras el establecimiento de  
un clon de células T maligno en el tracto intestinal.

---

Actualmente la NASPGHAN y la ESPGHAN, establecen como suficiente evidencia de enfermedad celiaca la presencia de una lesión tipo Marsh 2-3. La presencia de cambios infiltrativos (Marsh 1) la establecen como sospecha de enfermedad celiaca pero son necesarios otros datos como la serología, la presencia de HLA compatible o la respuesta al tratamiento con gluten y la repetición de la biopsia para confirmar el diagnóstico. (1, 2, 6)

En los casos en los que existe una clínica compatible con marcadores serológicos negativos y una lesión característica, se recomienda la realización del HLA: si este es negativo se postula que la enteropatía no es debida a la EC y que el diagnóstico únicamente se podrá realizar con la repetición de nuevas endoscopias. (2)

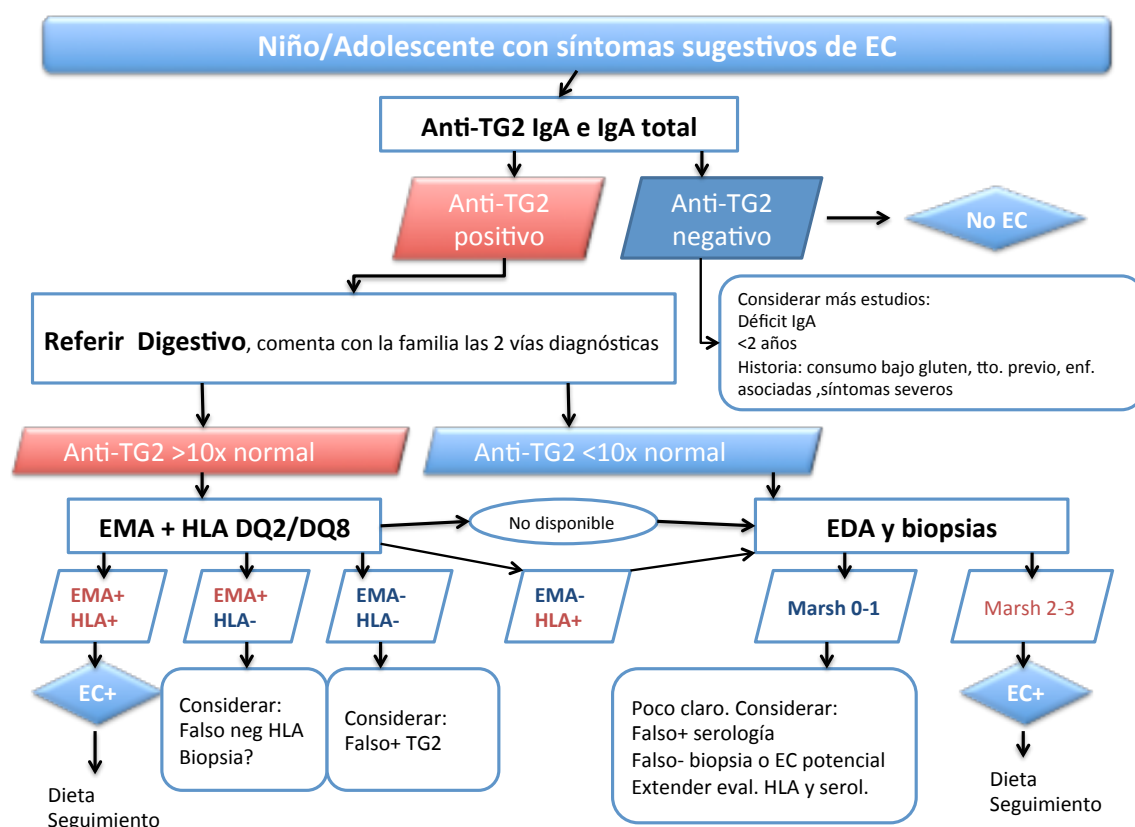
Las últimas recomendaciones, indican que un paciente con clínica compatible y una cifra de Ac antitransglutaminasa que multiplique x10 las cifras de corte pueden ser diagnosticados de enfermedad celiaca sin necesidad de biopsia intestinal siempre y cuando posean unos Ac antiendomiso también positivos (siempre deben darse el valor de la dilución a la que han sido estos positivos y de una muestra de sangre diferente a la de los Ac antitransglutaminasa para evitar falsos positivos). Este diagnóstico será más contundente en el caso de existir un HLA positivo. (Ilustración 5) (2)

En los pacientes con algún dato de riesgo de poder desarrollar un EC y asintomáticos se les debe de realizar HLA (Ilustración 10). En el caso de que sea negativo, la posibilidad de desarrollar una EC será baja no siendo necesario realizar más estudios. En el caso de que el paciente presente DQ8 y/o DQ2, sea homocigoto para las cadenas beta del HLA-DQ2 (DQB1\*022) o no puede realizarse la determinación del HLA se recomienda la determinación de serología (preferentemente después de los 2 años). En los casos que la serología sea negativa se recomienda la repetición periódica de la misma (2)

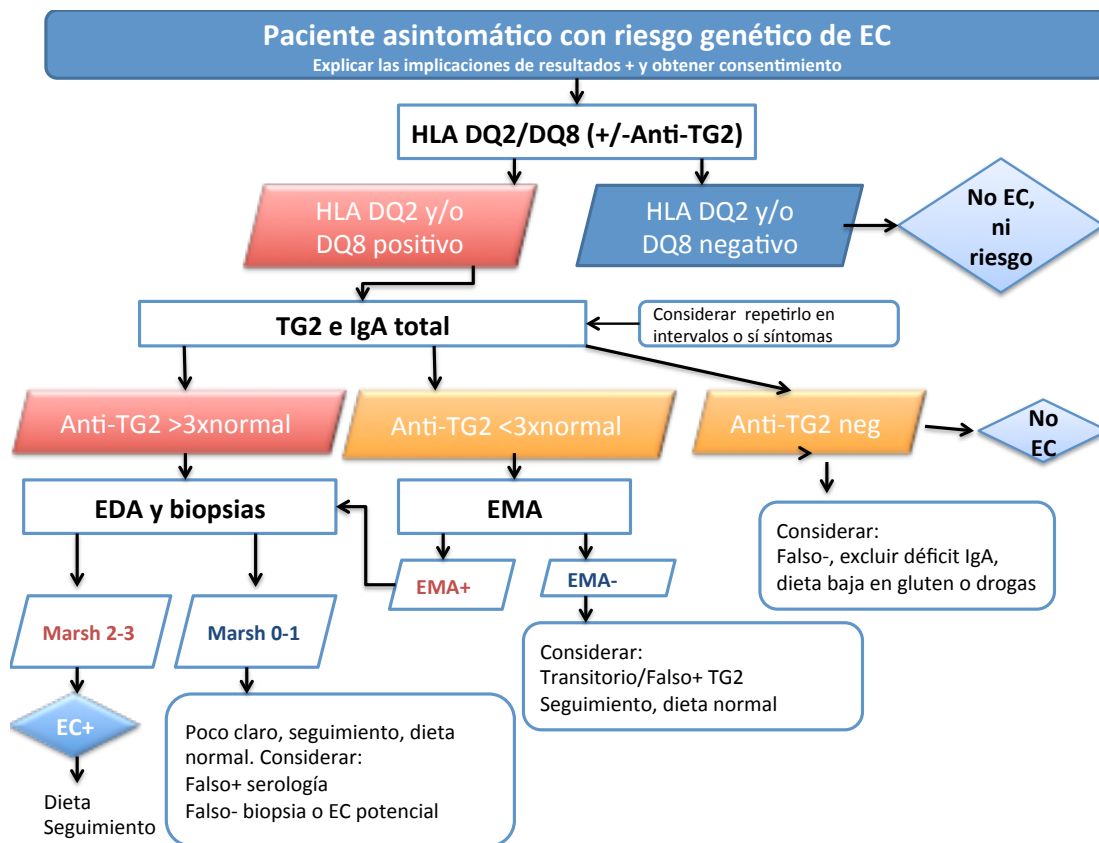
En los sujetos de riesgo asintomáticos que presenten niveles positivos de serología se debe de realizar endoscopia digestiva para confirmar el diagnóstico. Para evitar endoscopia innecesarias, aquellos que presenten cifras de Ac por debajo de x3 los

niveles máximos se debe de realizar una determinación de Ac Antiendomiso en un plazo de 3-6 meses.(Ilustración 6) (2)

La provocación con gluten es actualmente una medida extraordinaria en el diagnóstico de la EC. Se realiza en los casos en los que exista duda acerca del diagnóstico. No se recomienda antes de los 5 años y durante la pubertad, a menos que el niño presente un HLA negativo o se le haya instaurado la dieta sin gluten sin haber realizado un correcto diagnóstico de la EC. La ingesta diaria de gluten debe ser al menos de 15 gr/día (la cantidad diaria de ingesta normal en un niño). Durante periodo de provocación se realizarán controles de los niveles de IgA antitransglutaminasa. Se considerará que el paciente presenta una recaída debido a la EC en el caso de que aparezcan nuevos anticuerpos conjuntamente con clínica y/o una histología positiva. En el caso de que los anticuerpos no se vuelvan positivos o no aparezca clínica la provocación se dará como negativa tras un periodo de 2 años. De todas formas hay que tener presente que una recaída puede ocurrir más adelante y ser necesaria la realización de nuevas biopsias.(2)



**Ilustración 5** Algoritmo diagnóstico para niños celiacos. EC: enfermedad celiaca; Anti-TG2: Anticuerpos antitransglutaminasa; EMA: anticuerpos antiendomiso; EDA: endoscopia digestiva alta. Modificado de Ref (2)



**Ilustración 6. Algoritmo diagnóstico para pacientes asintomáticos. EC: enfermedad celiaca; Anti-TG2: Anticuerpos antitransglutaminasa; EMA: anticuerpos antiendomiso; EDA: endoscopia digestiva alta. Modificado de Ref (2)**

## 7. Tratamiento.

El tratamiento recomendado es la exclusión del gluten de la dieta de manera estricta de por vida. (1-5, 7) Con esta medida se consigue la normalización de los parámetros nutricionales, la desaparición de los síntomas digestivos, mejora de la densidad ósea, corrección del peso y de la talla. Los parámetros hematológicos y serológicos también se normalizan así como los psicológicos. Se ha comprobado una mejoría en la calidad de vida, disminución de abortos espontáneos y la disminución de procesos tumorales en comparación con individuos celiacos que no realizaban dieta (1-3, 7, 24). Así el riesgo de padecer cáncer de un paciente celiaco tras 5 años de dieta sin gluten es similar a un sujeto sano (25)(25)(25)(24, 33)

Tabla 7. Granos, semillas y almidones en la dieta sin gluten. Tomado de Ref (20)	
Proteínas permitidas	Proteínas prohibidas
Amaranto	Trigo (espelta, semolina, dürüm)
Arrurruz	Centeno
Alforfón	Cebada
Maiz	Triticale
Montina	kamut
Legumbres	
Mijo	
Avellanas	
Quinoa	
Arroz	
Soja	
Tapioca	
Teff	
Arroz salvaje	

La dieta debe ser estricta, lo que condiciona al individuo ciertos inconvenientes: restricción de actividades sociales, limitación de la variedad nutricional, mayor precio de los productos. Esto hace que la dieta se empiece siempre en base a los resultados de los distintos exámenes complementarios que permitan un diagnóstico.(1, 2, 6-8)

Entre los cereales que contienen gluten se encuentran el trigo, el centeno, la cebada y el triticale (una mezcla de trigo y arroz) (Tabla 7). La avena es un alimento sobre el cual permanece la duda. Hay estudios que parecen indicar su seguridad en pacientes con enfermedad celiaca, pero sigue siendo cuestionable ya que puede presentar contaminación con gluten y se han demostrado lesiones con consumos elevados (>70 g/día), aunque hay pacientes que tienen lesiones con cantidades más pequeñas, ya que parece que pueden ser más sensibles a la avena (1, 2, 6, 8, 20). La ingesta de avena puede aumentar la cantidad de hierro, fibra, tiamina y zinc en la dieta del celiaco. (20)

Se sabe que pequeñas cantidades de gluten son capaces de provocar daños en la mucosa intestinal. A pesar de ello, la definición estricta de que cantidad puede llegar a consumir un individuo para considerar que está realizando una dieta estricta sin gluten no está establecida. Alimentos con <20 ppm (<20 mg/kg) son definidos por el *Codex Alimentarius*,



como libre de gluten mientras que alimentos con <200ppm se definen como bajos en gluten. (1, 2, 5, 7, 20, 48). Esto hace que alimentos que en teoría son libres de gluten puedan presentar alguna contaminación (8, 24). En un estudio en adultos que seguían una dieta sin gluten se introdujeron cantidades diferentes de gluten en la dieta y analizaron las consecuencias, concluyendo que cantidades de hasta 50mg/d pueden llegar a ser toleradas. Otros autores defienden cantidades de 30 mg/kg, o de 100 mg/kg, estando posiblemente estas variaciones ligadas a la variabilidad interindividual de los pacientes. (8)

Tras la exclusión del gluten de la dieta la recuperación histológica completa no se produce de forma inmediata; en los adultos puede incluso tardar más de 2 años y en los niños no se produce antes del año de tratamiento dietético. (3, 6, 7)

Además de la exclusión del gluten de la dieta, en algunos niños recién diagnosticados con un cuadro severo puede ser necesario limitar la ingesta de lactosa durante un tiempo, hasta que la lesión intestinal mejore, debido al desarrollo de una intolerancia a la lactosa secundaria. (1, 2, 6)

Se están investigando nuevas terapias para el tratamiento de la enfermedad celiaca como son: la creación de trigo con baja inmunogenicidad mediante modificación génica o añadiendo probióticos que hidrolizen la gliadina; el uso de terapia enzimática que degrade la gliadina; el uso de sustancias que “ligen” o “neutralizen” la gliadina; el uso de toxinas que disminuyan la permeabilidad de la barrera intestinal; glucopeptidos que disminuyan la respuesta autoinmune; o la inducción de tolerancia al gluten. Todos ellos están en estudio y no hay resultados concluyentes. Tal vez el más prometedor es el de la inducción a la tolerancia. Su base nace de la existencia de individuos que a pesar de presentar la predisposición genética para el desarrollo de la enfermedad no la desarrollan y el hecho de existir individuos que tras ser diagnosticados de celiaquía en la infancia y más de 10 años de dieta sin gluten no presentan alteraciones tras una transgresión dietética. Actualmente existen varios estudios que investigan la creación de tolerancia a través de purificados de gluten vía intranasal o subcutánea. (3, 5)

## 8. Seguimiento

Se recomienda un seguimiento de los niños con enfermedad celiaca. La mejoría clínica suele aparecer en las primeras semanas del inicio de la dieta, pudiendo ser necesario hasta 2 años para la total reparación del daño intestinal. (6, 9, 49) Se defiende que a los

6 meses de haber iniciado la dieta se debe hacer un control clínico con recogida de datos antropométricos y realización de control analítico con anticuerpos antitransglutaminasa. (1, 2, 4) Estos anticuerpos deben descender su título en los casos de una dieta correctamente realizada; el tiempo de normalización de los anticuerpos depende del nivel inicial al diagnóstico, se ha descrito que los Ac antitransglutaminasa alcanzan valores normales a los 2-3 meses aunque pueden tardar hasta 1 año (2, 9) La persistencia de unos títulos de anticuerpos elevados es indicativo de una dieta mal realizada. Se estima que hasta un 6-37% de los individuos pueden realizar mal la dieta, por lo que las visitas periódicas ayudan a mejorar su realización. En pacientes asintomáticos con controles de anticuerpos normales se recomiendan revisiones anuales. (1, 2, 6) La determinación de una biopsia intestinal tras 2 años de tratamiento es la prueba de referencia para confirmar el diagnóstico y la correcta realización de la dieta. Dicha prueba actualmente no está indicada en los sujetos con mejoría clínica clara (8) Existen pacientes (5-10%) que a pesar de realizar una dieta correcta sin gluten no presentan mejoría.(3) En condiciones normales la mejoría desde el punto de vista clínico se sigue de una mejoría histológica, pero puede darse la situación de presentarse la mejoría histológica pero de persistir la clínica. En esos casos se debe buscar otra etiología de la sintomatología.(9, 49) Los individuos que a pesar de todo no presentan otra causa de sus molestias o del daño intestinal suelen ser adultos con una larga evolución de la enfermedad ( a menudo no detectada) en los cuales a pesar de comprobar la realización de la dieta de manera correcta y de excluir otras enfermedades siguen presentando clínica con diarrea y atrofia vellositaria. A esta situación se denomina celiacía refractaria,(3) entendiéndose como tal la persistencia o recurrencia de una atrofia vellositaria con hiperplasia críptica e incremento de linfocitos intraepiteliales a pesar de una dieta estricta de gluten durante más de 12 meses o cuando los síntomas persisten a pesar de la dieta sin gluten y habiendo excluido otras causas de malabsorción (9, 49)(tabla 8). Existe dos tipos: tipo 1 y tipo 2, cuyas características se resumen en la tabla 9.

Tabla 8. Diagnóstico diferencial enfermedad celiaca refractaria

Giardiasis  
 Esprue tropical  
 Diarrea postinfecciosa  
 Intolerancia proteica  
 Tuberculosis (incluidas atípicas)  
 SIDA  
 Inmunodeficiencia variable común  
 Enfermedad de Whipple  
 Enteritis postradiación  
 Enteropatía asociada a linfoma T  
 Enfermedad de Crohn  
 Gastroenteritis eosinofílica  
 Enteropatía autoinmune  
 Colitis microscópica  
 Insuficiencia pancreática intermitente asociada a enfermedad celiaca  
 Deficiencia a la lactosa secundaria  
 Sobrecrecimiento bacteriano  
 Síndrome de intestino irritable

Tabla 9. Características clinicopatológicas de la EC refractaria. Tomado de Ref (11)

Enfermedad	Clínica	Histología	Inmunohistoquímica	Características moleculares
Celiaquía refractaria tipo 1	Igual a la celiaquía más fenómenos tromboembólicos, infecciones, enfermedades autoinmunes	Similar a la EC más colágeno subepitelial, inflamación subcríptica, adelgazamiento de la mucosa, colitis colágena o linfocítica.	Similar a la EC	Linfocitos intrapiteliales monoclonales. Homocigotos para HLA DQ2

		Heretopia de glándulas oxínticas		
Celiaquía refractaria tipo 2	Similar a la celiaquía más: lesiones cutáneas, infecciones respiratorias	Idem a la tipo 1	Linfocitos intraepiteliales CD 103 +, CD7+, cCD3 +, sCD3 -, CD4 -, CD8 -, TCR -	Linfocitos intraepiteliales monoclonales. Homocigotos para DQ2

## 9. Prevención.

Se han propuesto diversos hechos que pueden favorecer la aparición de la celiaquía, principalmente relacionados con el tiempo de lactancia, la edad de inicio de la toma de gluten y la cantidad de gluten con la que se hace y la coincidencia o no de la lactancia materna con la introducción del gluten en la dieta. Clásicamente se ha considerado la lactancia materna como un fenómeno protector para el desarrollo de la enfermedad celiaca existiendo estudios que así lo demostraban(8, 50), pero el estudio Prevent CD no ha conseguido demostrar ni dicho efecto protector de la lactancia materna ni el de la introducción de pequeñas cantidades de gluten entre los 4 y los 6 meses de vida (51).

La edad a la que se debería introducir el gluten también está en discusión, aunque la tendencia es a proponer su introducción entre los 4-6 meses en pequeñas cantidades, coincidiendo con la lactancia materna y de forma progresiva.

El papel de las infecciones en el desarrollo de la enfermedad celiaca tampoco se conoce con profundidad, aunque se postula que pueden favorecer su desarrollo. (24)

## II. FISILOGIA TEJIDO OSEO

### 2. Generalidades del tejido óseo.

El tejido óseo es una forma especializada de tejido conjuntivo que, como otros tejidos conjuntivos, está compuesto de células y matriz extracelular. La característica que distingue al tejido óseo de los otros tejidos conjuntivos es la mineralización de su matriz,

que produce un tejido muy duro que es capaz de proveer sostén y protección. El mineral es fosfato de calcio en la forma de cristales de hidroxiapatita  $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ . (52)

En virtud de su contenido mineral el tejido óseo sirve también como sitio de depósito de calcio y fosfato. Tanto el calcio como el fosfato pueden ser movilizados de la matriz ósea y captados por la sangre según sea necesario para mantener las concentraciones adecuadas en todo el organismo. Por lo tanto, además de brindar sostén y protección, el tejido óseo desempeña un papel secundario importante en la regulación homeostática de la calcemia. (53)

Los principales componentes estructurales de la matriz ósea son el colágeno tipo I y, en menor medida, el colágeno de tipo V. Todos los colágenos constituyen alrededor del 90% del peso total de las proteínas de la matriz ósea.

La matriz también contiene otras proteínas no colágenas que forman la sustancia fundamental del tejido óseo. Como componentes menores del tejido óseo que constituyen sólo el 10% del peso total de las proteínas de la matriz ósea, son indispensables para el desarrollo, crecimiento, remodelado y reparación del hueso. Tanto el colágeno como los componentes de la sustancia fundamental se mineralizan para formar el tejido óseo. Los cuatro grupos principales de proteínas no colágenas que hay en la matriz ósea son:

- Macromoléculas de proteoglicanos, que contienen una proteína central con cantidades diversas de cadenas laterales de glucosaminoglicanos (hialuronano, condroitín sulfato y queratán sulfato) unidos en forma covalente. Contribuyen a que el tejido óseo ofrezca resistencia a la compresión. También tienen a su cargo la fijación de los factores de crecimiento e inhibirán la mineralización.
- Glicoproteínas multiadhesivas, que actúan en la adhesión de las células ósea y las fibras colágenas a la sustancia fundamental mineralizada. Algunas de las glicoproteínas más importantes son la osteonectina (que sirve como adhesivo entre el colágeno y los cristales de hidroxiapatita) y sialoproteínas como la osteopontina (que media la adhesión de las células a la matriz ósea) y las sialoproteínas I y II (que median la adhesión celular e inician la formación de fosfato de calcio durante el proceso de mineralización).
- Proteínas dependientes de la vitamina K osteoespecíficas, que incluyen la osteocalcina (que captura el calcio desde la circulación y atrae y estimula los

osteoclastos en el remodelado óseo), la proteína S y la proteína Gla matricial (MGP).

- Factores de crecimiento y citocinas, que son proteínas reguladoras pequeñas entre las que se encuentran los factores de crecimiento similar a la insulina (IGF), el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), el factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), el factor de crecimiento derivados de las plaquetas (PDGF), las proteínas morfogénicas óseas (BMP) y las interleucinas (IL-1, IL-6). Los miembros más singulares de este grupo son las BMP porque inducen la diferenciación de las células mesenquimáticas en osteoblastos, las células formadoras de tejido óseo.

En la matriz ósea hay espacios llamados lagunas u osteoplastos, cada uno de los cuales contiene una célula ósea u osteocito. Además de los osteocitos, en el tejido óseo hay otros cuatro tipos celulares: células osteoprogenitoras. osteoblastos. células de revestimiento óseo. osteoclastos. (52)

### 3. Huesos y tejido óseo.

El hueso está compuesto típicamente por tejido óseo y otros tejidos conjuntivos, incluidos el tejido hemopoyético y el tejido adiposo, junto con vasos sanguíneos y nervios. Si el hueso forma parte de una articulación móvil (sinovial) hay cartílago hialino presente. La capacidad del hueso de desempeñar su función esquelética se debe al tejido óseo y, cuando está presente, al cartílago hialino o articular.

Al examinar la superficie de corte de un hueso se pueden identificar dos organizaciones estructurales distintas del tejido óseo. Una capa densa y compacta forma la superficie ósea externa (tejido óseo compacto) mientras que una malla de aspecto esponjoso compuesta por trabéculas (delgadas espículas de tejido óseo anastomosadas) forma la parte interna del hueso (tejido óseo esponjoso). Los espacios que hay en la malla están comunicados y, en los seres vivos, contiene la médula y vasos sanguíneos. (52, 54)

### 4. Estructura general de los huesos.

#### 5. Superficie externa de los huesos.

Los huesos están revestidos de periostio excepto en las regiones donde se articulan con otro hueso. En este caso la superficie articular está cubierta de cartílago. El periostio que tapiza el hueso en crecimiento activo está compuesto por una capa fibrosa externa (superficial) similar a otros tejidos conjuntivos densos y una capa más celular interna (profunda) que contiene las células osteoprogenitoras. Si no se está formando tejido óseo en la superficie del hueso la capa fibrosa es el componente principal del periostio y la capa interna o profunda no aparece bien definida. No obstante, con el estímulo adecuado, las relativas pocas células periósticas que hay son capaces de sufrir mitosis y convertirse en osteoblastos.

Cuando un hueso se articula con otro, como en las articulaciones sinoviales, las superficies óseas que intervienen se llaman superficies articulares. Las superficies articulares están cubiertas de cartílago hialino, también llamado cartílago articular por su ubicación y características funcionales. El cartílago articular está expuesto en la cavidad articular, dado que no posee ningún revestimiento de pericondrio.(52)

## 6. Cavidades óseas.

El tejido que reviste tanto el hueso compacto que limita la cavidad medular como las trabéculas del hueso esponjoso se conoce como endostio. El endostio no suele tener más de una capa celular de espesor y consiste en células osteoprogenitoras que pueden diferenciarse en osteoblastos (células secretoras de matriz ósea) y células de revestimiento óseo.(54)

La médula ósea roja está compuesta por células de las progenies hemopoyéticas en diferentes etapas evolutivas y una red de fibras y células reticulares que funcionan como un almacén de sostén para los vasos y las células en desarrollo. Conforme el niño crece la cantidad de médula roja no aumenta en proporción con el crecimiento óseo. A mayor edad y en el adulto, cuando el ritmo de producción de células sanguíneas disminuye, la cavidad medular está ocupada en su mayor parte por tejido adiposo y entonces se llama médula ósea amarilla. En respuesta a estímulos adecuados, como una hemorragia grave, la médula amarilla puede convertirse otra vez en roja. En el adulto la médula ósea roja normalmente se restringe en los espacios de hueso esponjoso de muy pocos sitios, como el esternón y las crestas ilíacas. (52)

## 7. Hueso maduro

El hueso maduro está compuesto principalmente por unidades cilíndricas llamadas osteonas o sistemas de Havers. Las osteonas consisten en laminillas concéntricas de matriz ósea alrededor de un conducto central, el conducto de Havers (conducto osteónico), que presenta vasos y nervios. Los canalículos o conductillos que contienen las prolongaciones de los osteocitos en general se disponen siguiendo un patrón radial con respecto al conducto. El sistema de canalículos que se abre en el sistema de Havers sirve para el intercambio de sustancias entre los osteocitos y los vasos sanguíneos. Entre las osteonas hay restos de laminillas concéntricas antiguas que reciben el nombre de laminillas intersticiales. A causa de esta organización el hueso maduro se denomina hueso laminillar. (Ilustración 7) (54)

El eje longitudinal de una osteona suele ser paralelo al eje longitudinal del hueso, las fibras colágenas de cada una de las laminillas concéntricas de una osteona son paralelas entre sí pero están ordenadas en una dirección diferente de la que adoptan las fibras en las laminillas contiguas. Esta disposición le imparte a la superficie de corte del hueso un aspecto de madera terciada y le confiere una gran resistencia a la osteona.

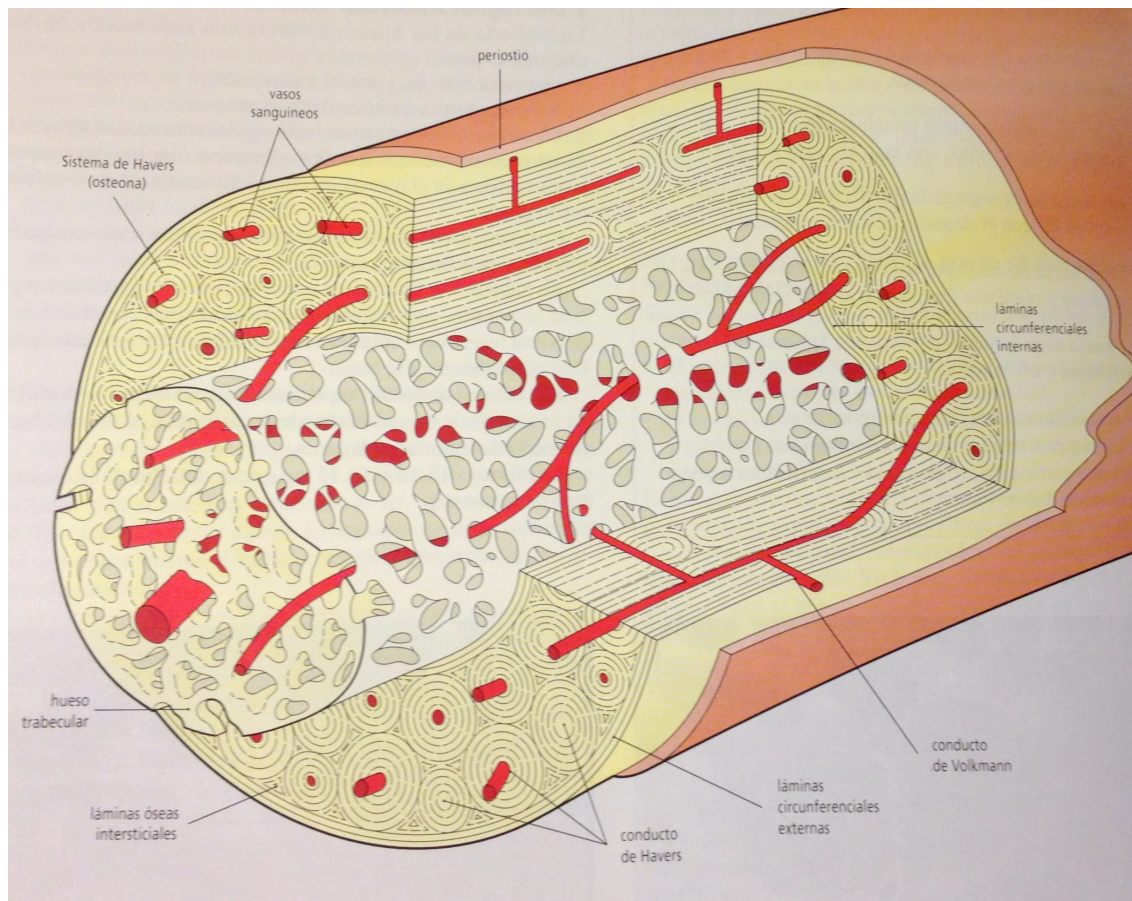
El hueso laminillar también se encuentra en otros sitios fuera de la osteona. Las laminillas circunferenciales siguen la totalidad de las circunferencias interna y externa de la diáfisis de un hueso largo y se ven muy parecidas a los anillos de crecimiento de un árbol. Los conductos de Volkman (conductos perforante) son túneles en el hueso laminillar a través de los cuales pasan vasos sanguíneos y nervios desde las superficies perióstica y endóstica para alcanzar el conducto de Havers; también conectan los conductos de Havers entre sí. Suelen discurrir perpendiculares al eje longitudinal de las osteonas y del hueso. (53, 54)

El hueso esponjoso maduro es de una estructura semejante a la del hueso compacto excepto que el tejido se distribuye en forma de espículas o trabéculas entre las cuales hay abundantes espacios medulares intercomunicados y de diversos tamaños. La matriz ósea es laminillar y si las trabéculas son lo suficientemente gruesas pueden verse osteonas.

Los agujeros nutricios son orificios del hueso a través de los cuales pasan vasos sanguíneos en su camino hacia la médula ósea. La mayor cantidad de agujeros nutricios están en la diáfisis y las epífisis. Las arterias metafisarias suplementan la irrigación sanguínea del hueso. El drenaje venoso se produce por medio de venas que abandonan el hueso a través de los orificios nutricios o a través del tejido óseo de la diáfisis y luego discurren por el periostio



La sangre que nutre el tejido óseo sale de la cavidad medular, atraviesa el hueso y luego lo abandona por medio de las venas periósticas; en consecuencia el flujo es centrífugo. Con respecto a la nutrición misma del hueso, los conductos de Volkman proveen la vía de entrada principal para los vasos que atraviesan el tejido óseo compacto. Los vasos sanguíneos de menos calibre se introducen en los conductos de Havers, donde se puede encontrar una arteriola y una vénula o sólo un capilar. Una irrigación de menor importancia es la que proviene de los vasos periósticos, que suelen irrigar sólo la porción mas externa del hueso compacto. En el hueso no hay linfa ni vasos que la contengan y sólo el periostio posee drenaje linfático.(52, 54)



**Ilustración 7. Esquema del hueso cortical. Tomado de Ref (53).**

## 8. Hueso inmaduro

El tejido óseo que se forma primero en el esqueleto de un feto en desarrollo recibe el nombre de hueso inmaduro. El hueso inmaduro difiere del maduro en varios aspectos:

- El hueso inmaduro no muestra un aspecto laminillar organizado. Por la disposición de sus fibras colágenas esta variedad ósea se denomina no laminillar, hueso entretejido o fasciculado.
- El hueso inmaduro contiene una cantidad relativamente mayor de células por unidad de volumen
- Las células de hueso inmaduro tienden a distribuirse al azar mientras que en el hueso maduro las células se orientan con su eje mayor paralelo a las laminillas.
- La matriz de hueso inmaduro posee más sustancia fundamental que la del hueso maduro.
- El hueso inmaduro no se mineraliza completamente desde un principio, mientras que el hueso maduro sufre una mineralización secundaria prolongada.

Por otro lado el hueso inmaduro se forma con mayor rapidez que el hueso maduro. Si bien el hueso inmaduro es el típico del feto y el maduro del adulto, con frecuencia aparecen en el adulto regiones de tejido óseo inmaduro, en especial donde el hueso se está remodelando, en los alveolos dentarios y en los sitios donde los tendones se insertan en los huesos.(52, 53)

#### j) Células del tejido óseo.

Los tipos celulares que hay en el tejido óseo son cinco: células osteoprogenitoras, osteoblastos, osteocitos, células de revestimiento y osteoclastos. Con excepción del osteoclasto, cada una de estas células puede considerarse una forma diferenciada del mismo tipo celular básico. Cada una se transforma de una forma más inmadura en una forma más madura en relación con la actividad funcional. En cambio el osteoclasto tiene su origen en una línea celular diferente y actúa en la resorción ósea. (53)

##### 1. Células osteoprogenitoras.

La osteogénesis, el proceso de formación del tejido óseo nuevo es indispensable para la función ósea normal. Necesita una población renovable de células osteoprogenitoras (células precursoras de los osteoblastos) que respondan a estímulos moleculares que las transformen en células formadoras de tejido óseo, estas células osteoprogenitoras derivan de células madre mesenquimáticas de la médula ósea que tienen la potencialidad de diferenciarse en muchos tipos de celulares diferentes. La proteína

fundamental que desencadena la diferenciación de las células osteoprogenitoras es un factor de transcripción llamado factor fijador central  $\alpha$  1 (CBFA1 – core binding factor  $\alpha$ -1). Esta proteína estimula la expresión de genes característicos del fenotipo del osteoblasto.

Las células osteoprogenitoras se hallan en las superficies externa e interna de los huesos y también podrían hallarse en la microvasculatura que irriga el tejido óseo. Desde el punto de vista morfológico estas células comprenden las células periósticas que forman la capa más interna o profunda del periostio y las células endósticas que tapizan las cavidades medulares, los conductos de Havers y los conductos de Volkman. (52-54)

## 2. Osteoblastos.

Como sus parientes cercanos, los fibroblastos y el condroblasto, el osteoblasto es una célula secretora versátil que conserva la capacidad de dividirse. Secreta tanto colágeno tipo I como proteínas de la matriz ósea, que constituye la matriz no mineralizada inicial, llamada osteoide. Las proteínas de la matriz ósea producidas por el osteoblasto incluyen proteínas fijadoras de calcio como la osteocalcina y la osteonectina, glucoproteínas multiadhesivas como las sialoproteínas, la osteopontina y la trombospondina, proteoglicanos diversos y fosfatasa alcalina. Las concentraciones de fosfatasa alcalina y osteocalcina circulantes se usan en la práctica clínica como indicadores de actividad osteoblástica.

El osteoblasto también tiene a su cargo la calcificación de la matriz. El proceso de calcificación parece ser iniciado por el osteoblasto mediante la secreción hacia la matriz de las vesículas matriciales. La secreción vesicular ocurre sólo durante el periodo en que la célula produce matriz ósea. Debido a que la matriz recién sintetizada apenas se tiñe en comparación con la matriz madura mineralizada, los osteoblastos parecen estar separados del hueso por una banda clara que corresponde al osteoide o matriz no mineralizada.

En contraste con los osteoblastos secretores que se ven donde hay depósito activo de matriz, los osteoblastos inactivos son células aplanadas o adelgazadas que revisten la superficie ósea. Estas células se parecen a las osteoprogenitoras. Los osteoblastos responden a estímulos mecánicos para mediar los cambios en el crecimiento y el remodelado de los huesos. A medida que se deposita matriz osteoide, el osteoblasto va

quedando rodeada de ella. Cuando termina incluido por completo en el osteoide se convierte en osteocito.

Al microscopio electrónico se ve que los osteoblastos poseen prolongaciones citoplasmáticas muy delgadas que se introducen en el osteoide y entran en contacto con las prolongaciones de osteocitos vecinos para comunicarse.(52-54)

### 3. Osteocitos

Una vez que el osteoblasto queda totalmente rodeado de osteoide o matriz ósea cambia su nombre por el de osteocito. Su función es la mantener la matriz ósea. Otra de las funciones es la mecanotransducción, en la cual la célula responde a fuerzas mecánicas aplicadas al hueso. Los osteocitos pueden sintetizar nueva matriz ósea y también reabsorberla, al menos en grado limitado. Estos procesos contribuyen de manera importante a la homeostasis del calcio en la sangre. (53)

La muerte de los osteocitos por traumatismos, envejecimiento celular o apoptosis da como resultados la resorción de la matriz ósea por actividad de los osteoclastos, seguida por reparación o remodelado del tejido óseo por actividad de los osteoblastos.

Cada osteocito ocupa un espacio, la laguna u osteoplasto, que se adapta a la forma de la célula. Los osteocitos extienden prolongaciones citoplasmáticas a través de canalículos en la matriz para establecer contacto con las prolongaciones de osteocitos vecinos y de células de revestimiento ósea del entorno. Los osteocitos pueden también comunicarse con los osteoblastos de forma indirecta, pericitos de los vasos sanguíneos y otras células óseas distantes por medio de la expresión de moléculas de señales diversas como transportadoras de glutamato y óxido nítrico. (53, 54)

Se han descrito tres estados funcionales para los osteocitos: latentes, formativos y resorptivos.(52)

### 4. Células de revestimiento óseo

En los sitios en los que no se está produciendo remodelado del tejido óseo maduro las superficies óseas están revestidas de células de revestimiento óseo. Estas células en las superficies externas del hueso reciben el nombre de células periósticas y las que tapizan las superficies internas se denominan células endósticas. Las células de revestimiento óseo constituyen una población celular derivada de los osteoblastos. También se cree

que intervienen en el mantenimiento y la nutrición de los osteocitos incluidos en la matriz ósea subyacente y que regulan el movimiento de calcio y fosfato desde la sangre hacia el hueso y desde el hueso hacia la sangre.(52)

## 5. Osteoclastos

Los osteoclastos son células multinucleadas grandes que aparecen en los sitios en los que hay resorción ósea. Están apoyados directamente sobre la superficie ósea en proceso de resorción. Como consecuencia de su actividad, en el hueso situado exactamente por debajo del osteoclasto se forma una excavación poco profunda llamada bahía o laguna de resorción (laguna de Howship). La gran cantidad de lisosomas que contiene determina que con técnicas histoquímicas muestre una reacción interna para la fosfatasa ácida. Una de estas enzimas, la fosfatasa ácida resistente a tartrato (TRAP) se usa como indicadora de actividad y la diferenciación de los osteoclastos.

A diferencia de lo que se creía antes, los osteoclastos no están emparentados con los osteoblastos sino que derivan de la fusión de células progenitoras hematopoyéticas mononucleares, a saber, CFU-GM, una célula que da origen a los linajes de granulocitos neutrófilos (CFU-G) y de monocitos (CFU-M). La formación de osteoclastos ocurre en asociación estrecha con células del estroma de la médula ósea. Estas células secretan citocinas indispensables para la diferenciación a partir de células CFU-GM tanto de los osteoclastos como de los macrófagos. Son ejemplos de estas citocinas el factor estimulante de colonias de monocitos (M—CSF), el TNF y varias interleucinas. En un principio las células predestinadas a convertirse en osteoclastos (precursores osteoclásticos) expresan dos factores de transcripción importantes, c-fos y NFkB; luego, una molécula receptora llamada RANK (receptor activador of nuclear factor KB) se expresa en superficie. El recetor RANK interacciona con la molécula ligando de RANK (RANKL) producida por las células del estroma y expresada en la superficie de esta células. El mecanismo de señalización RANK-RANKL es indispensable para la diferenciación y la maduración de los osteoclastos. Esta vía puede ser bloqueada por la osteoprotegerina (OPG), que funciona como receptor “señuelo” para RANKL. La falta de ligando disponible afecta el mecanismo de señalización RANK-RANKL y actúa como inhibidor poderoso de la formación de osteoclastos. Los osteoblastos son los productores principales de la OPG, que está regulada por muchos reguladores metabólicos óseos, como la IL-1, el TNF, el TGF- $\beta$ , la vitamina D y la

prostaglandina E2. Varios estudios indican que las sustancias que promueven la diferenciación osteoclástica y la resorción ósea actúan a través del sistema OPG/RANKL en la médula ósea. Tanto OPG como RANKL se detectan en una forma libre en la sangre y sus concentraciones pueden medirse con fines diagnósticos y para verificar la eficacia del tratamiento de muchas enfermedades óseas. (53)

Algunas de las vesículas del osteoclasto, si no casi todas, son lisosomas. Su contenido se libera al espacio extracelular a la altura de las hendiduras que entre los repliegues citoplasmáticos del borde festoneado, un claro ejemplo de hidrolasas lisosómicas que actúan fuera de la célula. Una vez liberadas esas enzimas hidrolíticas, entre las que se encuentran la catepsina K (cisteína proteasa) y las metaloproteinasas de la matriz, degradan el colágeno y otras proteínas de la matriz ósea.

No obstante, antes de que pueda producirse la digestión de la matriz ósea, ésta tiene que ser descalcificada por medio de la acidificación de la superficie del hueso, lo que indica la disolución del material. El citoplasma del osteoclasto contiene anhidrasa carbónica II, que produce ácido carbónico ( $H_2CO_3$ ) a partir de dióxido de carbono y agua. A continuación el ácido carbónico se disocia en bicarbonato y un protón. Con la ayuda de bombas protónicas dependientes de ATP los protones se transportan a través del borde festoneado, lo que genera un pH bajo (4-5) en el microambiente de la bahía de resorción. Este medio ácido local creado en el espacio extracelular entre el hueso y el osteoclasto está protegido por la zona clara. La electroneutralidad de la membrana del borde festoneado es facilitada por canales de cloro acoplados a las bombas de protones. El exceso de bicarbonato se elimina por intercambio pasivo con iones de cloro mediante proteínas intercambiadoras de cloro y bicarbonato que están ubicadas en la membrana basolateral.

El medio ácido inicia la degradación de componente mineral del hueso (principalmente hidroxiapatita) para convertirlo en iones calcio, fosfatos inorgánicos solubles y agua. Cuando se contempla la resorción del tejido ósea en cuestión, los osteoclastos sufren apoptosis. Varios estudios recientes indican que muchos fármacos utilizados para inhibir la resorción ósea (ej. Bifosfonatos y estrógeno) promueven la apoptosis osteoclástica. (53) Un aumento de la concentración de PTH promueve la resorción ósea y ejerce un efecto demostrable sobre la actividad osteoclástica, además de su ya comentado efecto sobre los osteocitos. En cambio, la calcitonina tiene un efecto opuesto compensador y reduce la actividad de los osteoclastos. Otras moléculas que desempeñan un papel importante

en la regulación de la actividad osteoclástica son la catepsina K, la anhidrasa carbónica II y las proteínas de las bombas protónicas (TCIRG1).(52, 53)

#### k) Remodelado óseo.

Remodelado óseo es el término con el que nos referimos al incesante fenómeno de renovación al que está sometido el hueso. La mineralización ósea muestra una tendencia al incremento progresivo desde el nacimiento hasta la edad adulta. Este crecimiento es mayor desde el nacimiento hasta los 2-3 años (en esta etapa se adquiere un 25% del pico de masa ósea). A partir de los 10 años, en niñas ocurre un incremento tanto de la densidad mineral ósea (DMO) como el contenido mineral óseo (CMO) hasta los 14 años, para enlentecerse a los 16 años y prácticamente cesar 2 años más tarde. En niños, el periodo de máxima mineralización es más tardío y prologado abarcando desde los 13 a los 17 años, continuando hasta los 20 años aunque a un ritmo más lento. Al llegar al estadio puberal V, aún existen ganancias en la DMO en niños, pero no en las niñas. En general a los 18 años se ha alcanzado un 90% del pico de masa ósea.(55-57)

Las principales funciones del fenómeno de remodelado óseo son:

- Sustituir el tejido óseo envejecido o lesionado por tejido nuevo y adaptarlo a las necesidades mecánicas de cada momento
- Contribuir a las necesidades de la homeostasis mineral. Se ha señalado también la posible intervención del fenómeno de remodelación ósea en la regulación del equilibrio ácido-base, a través del comportamiento del hueso como una fuente de bicarbonato.

Por otra parte, durante la resorción ósea se liberan factores de crecimiento y citocinas que pueden estar al servicio del normal funcionamiento de la médula ósea.

Entre los factores que intervienen en este proceso de crecimiento y maduración ósea se encuentran:

- Genéticos. Se sabe que el riesgo de desarrollar osteoporosis depende de hasta un 60-80% de factores genéticos aunque aún no se conocen los genes implicados.
- Hormonales. El desarrollo normal del esqueleto está condicionado por el correcto funcionamiento del sistema endocrino, fundamentalmente de la

hormona somatotropa (GH) y las hormonas calciotrópicas (parathormona, calcitonina y metabolitos de la vitamina D).

- Ambientales. A su vez de pueden clasificar en:

- Nutricionales

- Ingesta energética. Una baja ingesta calórica se asocia con un retraso en el crecimiento, maduración y mineralización ósea.
    - Aporte protéico. La ingesta de proteínas es necesaria para la formación de la matriz ósea. En nuestro ambiente este no suele ser un problema, más bien al contrario, el aporte excesivo de proteínas, al favorecer la hipercalciuria se ha postulado como un factor que podría fomentar la aparición de osteoporosis.
    - Calcio. El aporte de calcio no depende sólo del contenido de calcio en los alimentos, sino también de su biodisponibilidad (por ejemplo, un 30% en la leche y un 5% en las espinacas) que puede disminuir en función del contenido de fibra, oxalatos y fitatos, así como de la relación Ca/P. Además también varía la capacidad de absorción en las distintas etapas de la vida, de forma que en la pubertad, no sólo está aumentada, sino que disminuye la eliminación de calcio en heces y orina, por lo que el balance cálcico es más positivo que en otras etapas de la vida.

De todos modos se desconoce cuál es la cantidad mínima de calcio a partir de la cual se afectaría de forma significativa la mineralización ósea. Se postula que el factor verdaderamente importante en la mineralización ósea no es la ingesta puntual sino la ingesta media desde el nacimiento, ya que puede ser posible que a partir de 800 mg, la capacidad absorbente del calcio no se pueda mejorar.

- Fósforo. Es un mineral con una alta biodisponibilidad (60-80%) y que está muy presente en los alimentos y no suele haber problema de déficit, más bien al contrario, que su excesiva ingesta disminuya la relación Ca/P, y así interferir en la absorción del calcio.
    - Vitamina D. Juega un papel fundamental al favorecer la absorción de calcio a nivel renal y digestivo. La dieta no es capaz



de aportar las necesidades de esta vitamina y su principal fuente está en la transformación en la piel en la forma activa por las radiaciones solares.

- Otros nutrientes. La baja tasa de osteoporosis en países con elevada ingesta de frutas se ha relacionado con una adecuada relación Na/K y Ca/Na en esas dietas, así como en su contenido de magnesio, zinc, vitamina K, vitamina C, retinol y vitaminas del grupo B
- No nutricionales.
  - Alcohol. Disminuye la absorción intestinal e inhibe a los osteoblastos entre otras acciones
  - Tabaco. El tabaco afecta al metabolismo hormonal desde etapas jóvenes de la vida. Se ha demostrado que genera una pérdida de masa ósea en columna lumbar, influyendo en el metabolismo estrogénico, de la leptina y el eje PTH-vitamina D
  - Actividad física. Se ha demostrado que el sedentarismo reduce la mineralización ósea, mientras que el ejercicio la mejora. Sin embargo es difícil establecer una correlación entre actividad física y DMO.(55, 58, 59)

Desde el punto de vista histológico, el remodelado óseo se lleva a cabo simultáneamente en múltiples unidades microscópicas bien delimitadas dispersas por todo el esqueleto llamadas “unidades básicas de remodelado”. La unidad de remodelado se compone de un frente de osteoclastos seguido de un grupo de osteoblastos, un aporte vascular y nervioso, y tejido conectivo. En cada una de ellas el hueso es destruido y después sustituido por otro recién formado. (60, 61)

El remodelado óseo consta de cuatro fases sucesivas: activación, resorción, inversión y formación. La vía del RANKL/RANK/OPG es el principal sistema regulador por el cual la mayoría de los osteoclastos y los osteoblastos están interrelacionados. La actuación de las unidades de remodelación se inicia con la activación de un grupo de osteoclastos en un lugar determinado del esqueleto, que da paso a la resorción ósea. A continuación, y en el mismo lugar, se activan los osteoblastos, reponiendo el hueso destruido por los osteoclastos. La resorción se desarrolla durante unas tres semanas, y la formación durante tres o cuatro meses. Las unidades de remodelación renuevan, al cabo

de un año, un 3-4% del hueso cortical y un 25-30% del hueso trabecular. Se calcula que en un momento determinado están activos entre 1,5 y 2 millones de unidades, no sólo en distintos lugares, sino en diferentes momentos funcionales. En el caso del hueso cortical, la actuación celular tiene lugar en el seno del mismo. En el hueso trabecular, el fenómeno ocurre en la superficie de contacto con la médula ósea.

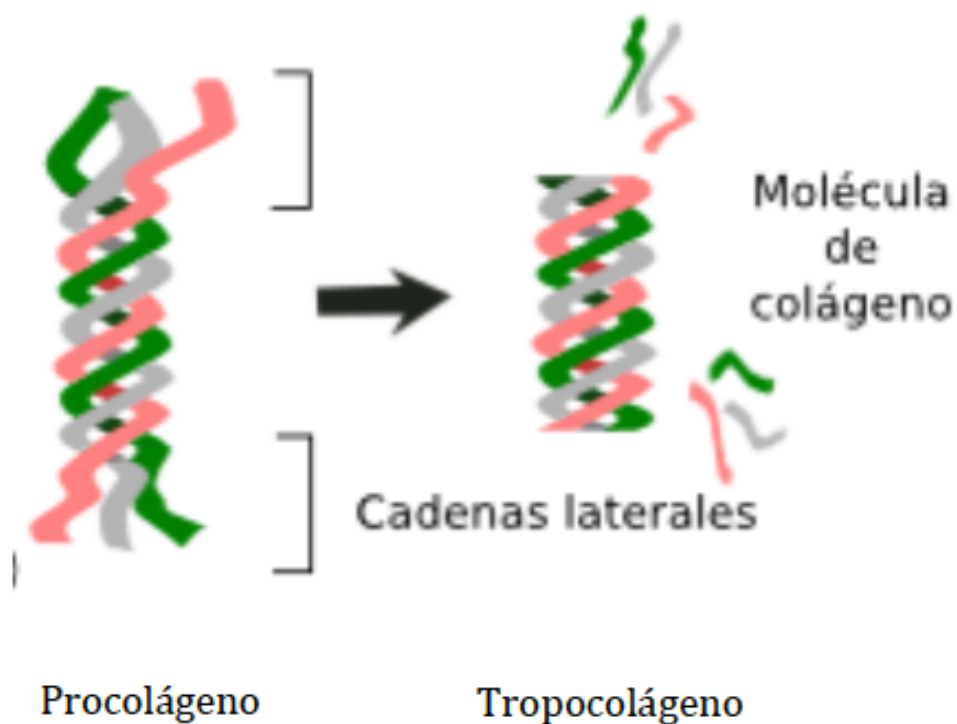
El proceso en las unidades de remodelado comienza, en la fase de activación, con el reclutamiento de los precursores de los osteoclastos, que proliferan, se diferencian y se fusionan, para formar las grandes células multinucleadas que constituyen los osteoclastos maduros. Esta activación depende de una citoquina conocida como RANKL, que es expresada y secretada por los osteoblastos. Esta proteína se une a un receptor (RANK), que está localizada en la superficie de los preosteoclastos y estimula la diferenciación de estas células hacia los osteoclastos activos. (32) Para que éstos desarrollen su efecto, las células que recubren el hueso (conocidas como “osteoblastos de revestimiento” o de reposo), deben retraerse y dejar hueco entre ellas. Tras establecer contacto con la matriz ósea, las células osteoclásticas experimentan un proceso de “polarización” en virtud del cual la zona de su membrana por la que se realiza dicho contacto adopta una conformación “rugosa”. Circundando a esta zona rugosa se desarrolla un anillo que sella el espacio que queda entre la zona rugosa y la matriz ósea, aislándolo del microambiente óseo. En la fase de resorción, los osteoclastos segregan a dicho espacio protones y enzimas proteolíticas (fundamentalmente catepsinas, de las cuales la más representativa es la catepsina K). La acidificación produce un fenómeno de desmineralización, y posteriormente la matriz desmineralizada (principalmente colágeno) es degradada por las enzimas proteolíticas hasta fragmentos mucho más pequeños, formando piridolina y desoxipiridinolina que son excretados por la orina. Algunos de esos fragmentos son digeridos de forma incompleta, formándose piridolina crosslink entre esos fragmentos y el Ntelopéptido tipo 1 y 2 que son también excretados por la orina. (32, 62)

Esta fase finaliza con la apoptosis osteoclástica, proceso regulado por diversos factores entre los que destaca por su importancia el TGF- $\beta$ , que además inhibe la apoptosis de los osteoblastos (63, 64)

Una vez finalizado el proceso de resorción, la superficie ósea queda libre de células, excepto por la presencia de unos pocos fagocitos mononucleares que, además de limpiar la cavidad, tienen la función de formar la línea de cementación sobre la que se

depositará el hueso nuevo. Es la fase de inversión, a la que sigue la actuación de los osteoblastos. Se denomina “acoplamiento” esta “adecuación temporoespacial” entre la actuación de los osteoclastos y la de los osteoblastos. Las señales responsables del mismo no se conocen bien, pero se piensa que pueden consistir en factores de crecimiento que, enterrados en la matriz ósea al formarse la misma, son liberados desde ella cuando es destruida. El más conocido es el factor transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ). También podría tratarse no ya de sustancias enterradas en la matriz, sino de elementos constituyentes de la propia matriz. (65)

La formación ósea se inicia en los osteoblastos que sintetizan colágeno tipo I y otras proteínas como la osteocalcina que se combinan extracelularmente para formar la base sobre la que ocurre la mineralización: el osteoide. Los osteoblastos contienen también fosfatasa alcalina en sus membranas (esta fosfatasa alcalina es funcionalmente similar, pero antigénicamente diferente de la contenida en el tejido hepático o la placenta). La síntesis del colágeno tipo I se hace gracias a dos cadenas polipeptídicas de forma helicoidal que al unirse forman una estructura que se conoce como procolágeno. A este se le unen dos péptidos aminoterminales y carboxiterminales que terminan configurando el tropocolágeno. (Ilustración 8) (62)



**Ilustración 8. Formación de tropocolágeno. Ref. (66)**

El hueso recién depositado no está mineralizado inicialmente (hueso osteoide), pero aproximadamente una semana después de la formación de la matriz ósea, precipita la hidroxiapatita, dando lugar al proceso de mineralización. Las láminas se van mineralizando desde la profundidad hacia la superficie, en el mismo orden que fueron depositadas. La mineralización alcanza el 60% de su máximo a las pocas semanas, y después continúa lentamente, durante 2-3 años, dando lugar a la denominada mineralización secundaria. (67, 68)

La regulación de este proceso viene marcado por el balance entre el RANKL y otra proteína liberada por los osteoblastos: la osteoprotegerina (OPG), que actúa sobre un receptor codificado para la RANKL e inhibe la interacción RANK-RANKL. El efecto final de niveles elevados de OPG es por tanto la inhibición de la actividad osteoclástica. La homeostasis ósea se consigue por tanto del balance entre la resorción ósea efectuada por los RANKL y el bloqueo de los RANKL por los OPG.

## l) Regulación del remodelado óseo

Todos los fenómenos anteriores deben estar regulados, siendo la “activación” de los osteoclastos y el “acoplamiento” de los osteoblastos a los osteoclastos los puntos clave. La activación marca, entre otras cosas, la velocidad del recambio. Ambos, activación y acoplamiento, están integrados por una serie de fenómenos parciales como el reclutamiento del tipo de célula de que se trate, su proliferación, su diferenciación y su activación. Cada uno de estos aspectos parciales está regulado independientemente, e incluso, en ocasiones, de forma contrapuesta. En condiciones normales, el ciclo vital de las células de remodelación termina por apoptosis, la cual también está sometida a regulación. (60)

En la regulación del remodelado óseo intervienen mecanismos locales y generales. Los primeros son fundamentalmente de dos tipos: mecánicos y humorales (citocinas y factores de crecimiento). Los generales también son de dos tipos, humorales (hormonas) y neurológicos. Los cuatro tipos de factores actúan conectados entre sí, y el efecto de todos ellos confluye en una “vía final común”, poniendo en marcha los mecanismos de señalización intracelular. (69-71)

### 6.1 Factores mecánicos

Los factores mecánicos deben guardar relación con la existencia de un “mecanostato”, o sistema capaz de regular la masa ósea en función de la sobrecarga mecánica detectada. El osteocito es el principal candidato a actuar como sensor del sistema. En respuesta a estímulos, enviaría órdenes a los osteoblastos de revestimiento, que se retraerían para dejar libre la superficie ósea y atraerían a los precursores de los osteoclastos. (52)

### 6.2 Factores neurológicos

El sistema nervioso central ejerce una función inhibidora del desarrollo de masa ósea, que lleva a cabo a través del sistema nervioso simpático (de hecho, el bloqueo de éste con bloqueadores beta da lugar a un aumento de masa ósea). Los factores que estimulan el sistema nervioso para que desarrolle esta función no están bien establecidos. El mejor conocido es la leptina, hormona secretada por los adipocitos que facilita la acción inhibidora del sistema nervioso central. Paradójicamente, esta hormona tiene el efecto

opuesto cuando actúa periféricamente.(72)

### 6.3 Factores humorales generales y locales.

Dentro de las hormonas suelen distinguirse las denominadas “hormonas calciotropas” (parathormona [PTH], calcitriol –o  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ - y calcitonina) y otras que pueden calificarse (desde el punto de vista del metabolismo mineral) de “inespecíficas”, entre las que se encuentran las hormonas sexuales (estrógenos y andrógenos), la hormona tiroidea, los glucocorticoides y la hormona del crecimiento.

Los factores locales reguladores de la remodelación ósea son muy numerosos y constituyen un entramado funcional en el que unos determinan o modifican la acción de otros. La lista incluye distintas interleuquinas (IL-1, IL-6,...), el TNF, la  $\text{PG}_2$  y los leucotrienos, los IGF, etc. A continuación vemos algunos de los más relevantes más detenidamente.

#### a. Hormona paratiroidea (PTH)

Sintetizada por las glándulas paratiroides, el principal estímulo para su liberación es la hipocalcemia, mientras que la hipercalcemia tiene un efecto contrario. Existen otros estímulos para su liberación como son los corticoides, el magnesio y las catecolaminas. Tiende a aumentar la calcemia por diferentes mecanismos: aumenta la resorción de hueso, aumenta la reabsorción de las células tubulares renales de calcio y estimula la síntesis renal de calcitriol, lo que secundariamente favorece la absorción intestinal de calcio. El incremento de la resorción se debe a un estímulo de la actividad osteoclástica. Se piensa que no se trata de un efecto directo sobre los osteoclastos, sino que está mediado por los osteoblastos u otras células del microambiente óseo, pero no se ha esclarecido aún cuál es el mecanismo real por el que se transmite la señal de los osteoblastos a los osteoclastos. En algunos modelos *in vitro* la PTH aumenta la síntesis de ciertas citocinas como M-CSF, IL-6 e IL-11, que estimulan la osteoclastogénesis. Además, los pacientes con hiperparatiroidismo presentan un aumento de los niveles séricos de IL-6 y existe una correlación directa entre éstos y los marcadores de resorción ósea. Puesto que la PTH no parece influir en la producción de IL-6 por las células sanguíneas, probablemente sean las células óseas la fuente de la IL-6. Estos datos han llevado a sugerir la implicación de la IL-6 en la acción prorresortiva de la PTH. Sea

cual sea el mecanismo, la PTH favorece la fusión de los precursores osteoclasticos y la actividad de los osteocitos maduros. La PTH ejerce también efectos complejos sobre los osteoblastos y, a dosis adecuadas, incrementa la masa ósea, tanto en animales de experimentación como en humanos, lo que ha llevado a su introducción en el tratamiento de la osteoporosis.(55, 73, 74)

#### b. 1,25 Dihidroxicolecalciferol

La vitamina D, procedente de la dieta y, sobre todo, de la síntesis endógena en la piel, se hidroxila en el hígado en posición 25, formándose la 25-hidroxitamina D o calcidiol. Este metabolito es después hidroxilado en el riñón en posición 1. Se origina así la 1,25-dihidroxitamina D o calcitriol, que es el metabolito más activo y responsable de la mayoría de las acciones atribuidas a la vitamina D. Al igual que la PTH, el calcitriol tiene una serie de efectos tendientes a aumentar la calcemia, de los cuales el mejor conocido es la estimulación de la absorción intestinal de calcio. *In vitro* aumenta la resorción ósea, pues favorece la diferenciación y fusión de los precursores de los osteoclastos. Al igual que en el caso de la PTH y algunos otros mediadores, estos efectos no parecen deberse a una acción directa sobre los osteoclastos, sino que están mediados por los osteoblastos o las células del estroma.

*In vivo* el efecto es menos predecible, pues el aumento de la absorción de calcio (y quizás una acción directa sobre las paratiroides) tiende a frenar la secreción de PTH y consecuentemente a disminuir la resorción ósea. El calcitriol es necesario para mantener los niveles de calcio y fósforo que se requieren para la mineralización del osteoide. Pero además ejerce acciones directas sobre la estirpe osteoblástica, que en general tienden a promover su diferenciación y se traducen en incrementos de la síntesis de proteínas como la osteocalcina o la fosfatasa alcalina. Junto al hueso y las paratiroides también ejerce acción con las células tubulares renales estimulando la reabsorción de calcio y fosfato (74, 75)

#### c. Calcitonina

Sintetizada por las células C o parafoliculares del tiroides, el principal estímulo para su liberación es la hipercalcemia, mientras que la hipocalcemia tiene el efecto contrario. Tiene efectos a nivel del riñón donde actúa a nivel de las células tubulares estimulando

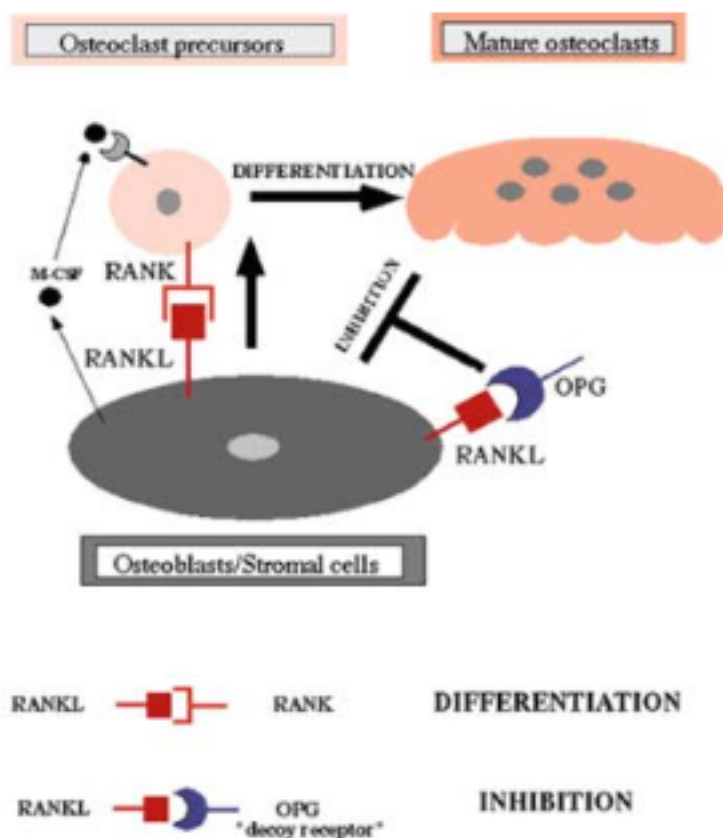
la excreción de calcio y fósforo y a nivel de intestino disminuyendo la absorción de calcio y fósforo. A nivel óseo es donde tiene su mayor efecto, siendo un potente inhibidor de la reabsorción osteoclástica, pero sus efectos son transitorios. El osteoclasto escapa a los efectos de la calcitonina en una exposición continuada(76). Los pacientes tratados por hipercalcemia con calcitonina responderán sólo durante periodos limitados de tiempo (entre 48-72 horas) antes de que baje la hipercalcemia. El “fenómeno de escape” es ocasionado por una regulación a la baja del mRNA para el receptor. La calcitonina causa contracciones citoplasmáticas en las membranas osteoclásticas que se han correlacionado con su capacidad para inhibir la reabsorción(77).

Además causa la disolución de los osteoclastos maduros en células mononucleares. Sin embargo, inhibe la formación osteoclástica, tanto la proliferación de progenitores como la diferenciación de los precursores. (55, 78, 79)

#### d. Sistema RANK-RANKL-OPG

En la regulación del fenómeno de remodelación es de gran importancia el sistema RANK-RANKL-OPG<sup>11-13</sup> (Ilustración 9). El RANK (*Receptor for Activation of Nuclear Factor  $\kappa B$  [NF  $\kappa B$ ]*) es un receptor de la familia TNFR presente en los osteoclastos, al que se une el RANKL (o ligando del RANK, de la familia del TNF) presente en la membrana de las células de estirpe osteoblasto/estroma medular. Como consecuencia de dicha unión, aumenta la proliferación y actividad de los osteoclastos, al tiempo que disminuye su apoptosis. La osteoprotegerina (OPG) es un receptor osteoblástico, miembro también de la familia TNFR, carente de dominio transmembrana, que, por ello, es secretado al exterior. Su ligando es el propio RANKL, de manera que puede decirse que se interpone entre él y el RANK, con lo que, por tanto, impide su puesta en contacto (se comporta como un receptor “señuelo” o “trampa”). Es decir, el osteoblasto produce tanto el activador de los osteoclastos como una sustancia que neutraliza dicho activador. En general, los mismos factores que estimulan uno, inhiben el otro. En definitiva, lo que determina la cantidad de hueso a resorber es la relación RANKL/OPG. Las células T expresan RANKL, del que pueden segregar una forma soluble. El sistema RANK-RANKL-OPG se considera en gran medida la “vía final común” de numerosos factores resorptivos. La PTH, el 1,25(OH)<sub>2</sub>D, las hormonas tiroideas, la IL-1, el TNF $\alpha$ , la IL-6, la PGE<sub>2</sub>, la IL-11, etc., aumentan la relación RANKL/OPG; los estrógenos desarrollan el efecto contrario.





**Ilustración 9. Sistema OPG/RANKL-RANK. Tomado de Ref (67)**

El RANK activa diversas vías de señalización intracelular (NFκB, que da nombre al sistema, JNK, Erk, PI3K/Akt, NFAT). El paso clave inicial en la actuación del RANK es la unión de los TRAF (factores citoplasmáticos asociados al TNFR) a lugares específicos de su dominio intracelular. El TRAF-6 es el mejor conocido, y actúa como un adaptador para la unión de diversas proteínas de señalización. El osteoblasto produce, además del RANKL, otra sustancia necesaria para la osteoclastogénesis, el M-CSF, que se une al receptor C-CSF presente en los precursores de los osteoclastos. La presencia simultánea de RANKL y M-CSF se ha venido considerando suficiente para inducir la formación de osteoclastos, pero hoy se sabe que no es así. Deben activarse también inmunorreceptores vinculados a moléculas adaptadoras que contengan en su cola citoplasmática el motivo ITAM<sup>14</sup>. Los receptores son el TREM2 (*triggering receptor expressed on myeloid cells*) y el OSCAR (*osteoclast-specific activating receptor*), y las moléculas adaptadoras a que están vinculados son la DAP12 (*DNAX activating protein*) y la FcRγ (*Fc receptor common gamma chain*). Los ligandos del TREM2 probablemente se encuentran en los propios osteoclastos activados, y los del OSCAR en los osteoblastos, aunque permanecen muchos aspectos por esclarecer en este campo. La coestimulación de la



del factor en estudio, modelos *in vitro* o *in vivo*, etcétera.); de ahí que sea difícil establecer cuál es el papel fisiológico real de estos factores y cuál es su participación en la génesis de las enfermedades óseas.(74, 78, 79)

#### f. Factores insulin like. IGF-I y II

Los factores insulin-like (IGF) I y II tienen efectos biológicos similares, pero el I es de 4 a 7 veces más potente en el hueso que el II (aunque este último se encuentra en concentraciones óseas más elevadas). Aunque tienen acciones a nivel sistémico, tienen un efecto directo y probablemente mayor efecto sobre los tejidos óseos. *In vitro* aumenta la síntesis de matriz y colágeno óseo y estimula la replicación de células de la línea osteoblástica(82). El efecto es dual, un incremento en la síntesis de colágeno y un descenso en su degradación es el eje central del mantenimiento de la matriz y masa ósea. Un periodo de infusión corto en humanos genera un efecto anabólico y un incremento en el remodelado. La síntesis de IGF –I es regulada por hormonas y factores de crecimiento, mientras que la II sólo es regulada por factores de crecimiento. (78)

#### g. Linfotoxina y Factor de Necrosis Tumoral (TNF)

Son moléculas que se encuentran relacionadas con la interleukina-1 (IL-1). Comparten el mismo receptor entre ellas, siendo diferente del de la IL-1. Sus acciones sobre el hueso son sinérgicas con las de la IL-1. La linfotoxina se activa por los linfocitos-T y el TNF por macrófagos activados. Ambas moléculas estimulan la proliferación de los progenitores osteoclásticos, causan la fusión de los precursores formando las células multinucleadas y las activan (a través de células en el linaje osteoblástico) para reabsorber el hueso. La linfotoxina puede ser un importante mediador de la reabsorción ósea en el mieloma. Las dos sustancias causan reabsorción osteoclástica e hipercalcemia cuando se inyectan o difunden *in vivo*.(71, 83, 84)

#### h. Factor Estimulador de Colonias-1 (FEC-1)

El FEC-1 se ha demostrado que es requerido para la formación normal del osteoblasto durante el periodo neonatal. Su variante op/op está disminuida en la

osteopetrosis, por lo que la enfermedad puede ser tratada con esta molécula. El FEC-1 es producido por células estromales en el microentorno osteoclástico. (71, 85, 86)

i. Proteínas morfogenéticas (BMPs)

Las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs) son sintetizadas por los osteoblastos y quedan incluidas en la matriz ósea. Son esenciales durante la organogénesis. Su efecto mejor conocido consiste en promover la diferenciación de las células mesenquimales hacia condrocitos y osteoblastos, de manera que inducen la formación de cartílago y su transformación posterior en hueso. La activación de la transcripción del factor Cbfa1 desempeña en ello un papel clave, aunque no es el único mecanismo implicado. No está claro su posible papel en el remodelado óseo normal. Algunos miembros de esta familia podrían favorecer la formación de osteoblastos, mientras que otros ejercen efectos quimiotácticos sobre los monocitos y parecen promover la diferenciación de los osteocitos y prolongar su supervivencia. Además, recientemente se ha señalado que la BMP-2 puede favorecer la actividad de los osteocitos maduros, incrementando la expresión de catepsina K y anhidrasa carbónica. (74)

j. Factor de Crecimiento Transformante Beta (TGF-  $\beta$ )

El FTGF- $\beta$  es un polipéptido multifuncional que es producido por células inmunitarias pero también es liberado por la matriz ósea durante la reabsorción. El TGF- $\beta$  estimula la replicación de precursores de la línea osteoblástica y tiene un efecto estimulador sobre la síntesis de colágeno. Inhibe la formación de osteoclastos inhibiendo tanto la proliferación como la diferenciación de precursores osteoclastos. Además inhibe directamente la actividad de los osteoclastos maduros disminuyendo la producción de superóxido, y la acumulación de fosfatasa ácida tartrato resistente. Debido a que el TGF- $\beta$  tiene un efecto potente en osteoclastos (estimula la proliferación y síntesis de proteínas diferenciadas y aumenta la formación de hueso mineralizado) puede ser un factor pivote en el proceso de remodelado óseo. Al mismo tiempo, trabaja en conjunción con otros factores óseos en la estimulación de osteoblastos y formación eventual de hueso nuevo. Sin embargo, los efectos del TGF- $\beta$  son complejos y pueden diferenciarse en diferentes especies. (71, 87) Las hormonas que inducen la reabsorción ósea, como la PTH, activan y aumentan la tasa de TGF-B desde el hueso(88).

#### k. Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF)

Los factores derivados de las plaquetas (PDGF) inicialmente aislados de las plaquetas, también se sintetizan en tejidos normales o neoformados, lo cual indica que pueden actuar como reguladores locales o sistémicos del crecimiento de tejidos. Los osteoblastos y las células del osteosarcoma expresan los genes tanto del PDGF-A como el B, y tienen el potencial de sintetizar todas las isoformas de PDGF. Tienen la misma actividad que los FGF. Estimulan la replicación celular ósea y, como una consecuencia del incremento de células, los PDGF estimulan la síntesis de colágeno óseo. Sin embargo, no estimulan la diferenciación del osteoblasto e inhibe la aposición de matriz ósea(89). PDGF-B, además, estimula la resorción ósea por incremento del número de osteoclastos e induce la expresión de MMP-13 por los osteoblastos.

La síntesis de los PDGF producidos localmente es regulada por factores de crecimiento(90).

#### l. Prostaglandinas y leucotrienos

Las prostaglandinas (PG) modulan la actividad de osteoblastos y osteocitos. La PGE ha sido la más estudiada. Aunque puede ejercer cierta influencia depresora directa de la actividad de los osteocitos maduros, su efecto predominante *in vitro* es un aumento de la resorción ósea, debido a que promueve la formación de osteocitos. *In vivo* provoca un incremento tanto de la resorción como de la formación, con predominio de esta última y ganancia de hueso.

Los metabolitos de la vía de la lipooxigenasa, los leucotrienos, ejercen un efecto catabólico sobre el hueso. Por un lado, favorecen la formación de osteocitos y la actividad resorptiva de los osteocitos maduros. Por el otro, tienen efectos inhibidores sobre la actividad osteoblástica (74, 91).

#### m. Hormonas tiroideas

Las hormonas tiroideas aumentan la frecuencia de activación de las unidades de remodelado y por tanto aceleran la velocidad de recambio. En consecuencia, en el hipertiroidismo existe un incremento en las tasas de resorción y formación óseas, con predominio de la resorción, que conduce a la disminución de la masa ósea. Tanto los osteoblastos como los osteocitos parecen expresar receptores para estas hormonas. A nivel celular, se sabe que las hormonas tiroideas favorecen la osteoclastogénesis y

ejercen influencias complejas sobre los osteoblastos, incluyendo el estímulo de la síntesis de IGF-I, IL-6 e IL-8.(74, 92-94).

#### n. Glucocorticoides

La presencia de glucocorticoides es necesaria para la diferenciación normal de muchas células, y probablemente también entre ellas las del hueso. Sin embargo, el exceso de glucocorticoides, endógenos o exógenos, tiene efectos profundos negativos sobre el esqueleto. De hecho, la causa más frecuente de osteoporosis secundaria es el tratamiento prolongado con estos compuestos.

Los glucocorticoides deprimen la actividad de las células de la línea osteoblástica: inhiben la replicación de sus precursores y favorecen la apoptosis. Por otro lado, disminuyen la síntesis de colágena, osteocalcina e IGFs. Además, inhiben la expresión de integrinas, con lo que se dificulta su adhesión a la matriz y presumiblemente el depósito del osteoide. En cuanto a la resorción, en general se considera que tienden a incrementarla, pero los datos son menos evidentes. Pueden modular la apoptosis de los osteocitos y la producción de RANKL y osteoprotegerina. Pero sus efectos *in vitro* sobre la actividad osteoclástica son variables, dependiendo de las condiciones experimentales. En algunos estudios *in vivo*, se ha encontrado estimulación de la resorción. Además de las acciones directas sobre el tejido óseo, los glucocorticoides ejercen un efecto pro-resortivo indirecto, mediado por un incremento en la secreción de PTH (los corticoides inhiben la absorción intestinal de calcio y aumentan su eliminación renal), o en su actividad sobre el hueso, en relación con el aumento en la expresión de sus receptores. La disminución de la síntesis de hormonas sexuales que suelen presentar los pacientes tratados con glucocorticoides también puede contribuir al desarrollo de osteoporosis.(74, 95, 96)

#### o. Estrógenos y andrógenos

El papel fundamental de los estrógenos en el metabolismo óseo queda de manifiesto en la pérdida de masa ósea que ocurre en los primeros años de postmenopausia tras el cese de la actividad estrogénica, lo que ocasiona un aumento del remodelado debido a la elevación de distintas citoquinas prorresortivas como IL-1, M-CSF y el factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ). Sus efectos sobre las células óseas están mediados por dos clases de receptores estrogénicos expresados en citoplasma y núcleo: el alfa, presente en osteoblastos y osteoclastos, y el beta, expresado solo por osteoblastos. Los estrógenos

ejercen además sus efectos positivos a través de un efecto paracrino.

El papel de los estrógenos *in vitro* es la inhibición del desarrollo de los osteoclastos, favoreciendo su apoptosis por estímulo de la producción del factor de crecimiento tumoral  $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ) por los osteoblastos, además de inhibir la producción de IL-6, el principal estímulo para la resorción. Previenen también la apoptosis osteoblástica. La deficiencia estrogénica incrementa además la apoptosis de los osteocitos, lo que, según se ha propuesto, altera la función mecanosensora del sistema canalicular de reparación de microdaños contribuyendo a la fragilidad ósea. Aunque los andrógenos desempeñan funciones similares *in vitro*, en general los estudios que han investigado los efectos de los andrógenos sobre las células óseas no arrojan resultados tan concluyentes como los realizados con estrógenos, tanto para los efectos sobre producción de citoquinas como sobre proliferación y diferenciación osteoblástica.

El papel de los estrógenos sobre la adquisición de la masa ósea y el desarrollo del esqueleto masculino se conocen a partir de la experiencia de pacientes con defectos genéticos del gen de la aromatasas, en los que a pesar de niveles elevados de andrógenos existía una baja masa ósea y que respondía a la administración de estrógenos. Las acciones estrogénicas sobre la masa ósea del varón se realizan fundamentalmente a través del receptor alfa como se ha demostrado en estudios con ratones *knockout*. Estudios transversales y posteriormente prospectivos han demostrado el efecto de mantenimiento de la masa ósea adquirida y una estrecha correlación entre los niveles de estradiol biodisponible en suero y la masa ósea en varones, tanto en jóvenes como en ancianos. Posteriormente en un estudio de intervención en el que se bloqueó la producción de estrógenos y andrógenos en varones ancianos, solo los estrógenos fueron capaces de inhibir la resorción, mientras que la administración de testosterona fue mucho menos eficaz. El papel dominante de los estrógenos en el metabolismo óseo del esqueleto adulto del varón ha sido comprobado en varios estudios posteriores. El efecto antirresortivo más potente de los estrógenos y su importante papel en la masa ósea de los varones puede explicarse por los diferentes efectos ejercidos sobre la producción de OPG. Tanto *in vivo* como *in vitro* los estrógenos estimulan la producción de OPG y suprimen la de RANKL, mientras que la testosterona inhibe ambas moléculas. Es posible que exista un efecto diferencial sobre otras moléculas reguladoras de la osteoclastogénesis.

Los principales efectos de los andrógenos tanto en varones como en mujeres son incrementar el tamaño óseo y estimular la formación, con un discreto efecto de inhibición de la resorción ósea. La mayoría de los estudios realizados *in vitro* demuestran un efecto estimulador de la proliferación y diferenciación osteoblástica, a la vez que inhibe su apoptosis. La vía efectora de estos efectos se ha propuesto que es un estímulo de TGF- $\alpha$  e IGF-1 junto a una inhibición de IL-6. La existencia de un efecto directo de los andrógenos sobre los osteoclastos es controvertida, y se ha propuesto que gran parte de los efectos de inhibición osteoclástica están mediados de forma indirecta por la acción sobre osteoblastos, aunque es importante destacar que la mayoría de estos efectos no han sido comprobados *in vivo*. En varones, los andrógenos son responsables de una mayor masa muscular, lo que determina mayor tamaño óseo y carga mecánica, aunque se desconoce la trascendencia de este efecto sobre el remodelado. Experiencias en animales resaltan el principal efecto esquelético de los andrógenos, la regulación del tamaño óseo por potenciación de la aposición de hueso sobre la superficie perióstica externa.

En mujeres, el efecto positivo de los andrógenos sobre la densidad mineral ósea (DMO) queda demostrado en la menor masa ósea que presentan las mujeres con síndrome de resistencia a los andrógenos, asociación que ha sido comprobada en estudios observacionales posteriores. En mujeres premenopáusicas, los niveles de testosterona total y biodisponible muestran asociación con la DMO en el cuello femoral, y parecen ser un buen marcador de predicción de pérdida ósea en dicha localización tras ajustar por edad, peso y niveles de estradiol. Los datos en cuanto a la asociación entre andrógenos suprarrenales y DMO no son concluyentes, aunque puede que contribuyan a mantener la masa ósea.

En cualquier caso, a pesar de sus efectos positivos sobre la masa ósea, los andrógenos en la mujer no desempeñan un papel central en el metabolismo óseo como ocurre con los estrógenos en los varones. (74, 97)

#### p. Hormona de Crecimiento (GH)

Además de su reconocida importancia durante el periodo de crecimiento, en los últimos años se han obtenido una serie de datos que sugieren que la GH puede jugar algún papel en la regulación del remodelado del hueso adulto. De hecho, se ha señalado que



los pacientes con hipopituitarismo y deficiencia de GH tienen un mayor riesgo de fracturas. *In vitro* la GH tiende a estimular la proliferación y diferenciación de los osteoblastos. Estas acciones son mediadas sólo en parte por un incremento en la síntesis de IGFs. También estimula la osteoclastogénesis. *In vivo* induce un aumento de la velocidad de recambio, con un patrón bifásico en el que inicialmente parecen predominar los fenómenos de resorción y después los de formación. (74)

#### q. Factor de crecimiento fibroblástico (FGF)

Los factores de crecimiento fibroblástico (FGF) tanto los ácidos como los básicos estimulan la replicación celular, la cual resulta del incremento de la población de células óseas capaz de sintetizar colágeno óseo. Los básicos son más potentes que los ácidos. Los huesos tratados con FGF sintetizan una cantidad mayor de matriz colagénica porque contienen un gran número de células sintetizadoras de colágeno, pero no por efecto directo de dichas moléculas en la función de diferenciación del osteoblasto. De hecho los básicos inhiben la transcripción del colágeno tipo I en los osteoblastos. Poseen efecto angiogénico, que en asociación con el comentado sobre la replicación de células óseas los implican en el proceso de reparación ósea y formación del callo de fractura. Ninguno modifica la reabsorción, pero los básicos incrementan la expresión de MMP-13, indicando una posible función en la degradación y remodelado del colágeno óseo(82).

#### 7. Marcadores de remodelado óseo

El remodelado óseo puede valorarse de forma directa mediante histomorfometría a partir de la biopsia ósea o bien, de forma indirecta, mediante la determinación de una serie de marcadores o constituyentes de la sangre y la orina, denominados marcadores bioquímicos del remodelado óseo, que son enzimas u otras proteínas secretadas por los osteoblastos (células formadoras de hueso) o los osteoclastos (células que reabsorben hueso), o bien productos que se originan durante la formación o la degradación del colágeno tipo I, la principal proteína que forma la matriz orgánica del hueso. Los marcadores relacionados con los osteoblastos y que reflejan la actividad osteoblástica se denominan marcadores de formación y los relacionados con los osteoclastos se denominan de reabsorción o resorción y se determinan en sangre(98). Los principales se muestran en la tabla 10.

Tabla 10.- Muestra los principales marcadores de remodelado óseo.	
DE FORMACIÓN	DE RESORCIÓN
* PINP	* $\beta$ cross-Laps
* Fosfatasa Alcalina Total	* Fosfatasa Alcalina Tartrato Resistente
* Fosfatasa Alcalina Ósea	* Calcio/creatinina en orina
* Osteoprotegerina	* Hidroxiprolina
* CICP	* Piridolina/Desoxipiridolina
* Osteocalcina	* Telopéptidos amino y carboxiterminal del colágeno 1

### 7.1 PINP Y CICP

Durante el proceso extracelular del colágeno se liberan péptidos de los extremos carboxi y aminotermiales de las moléculas de procolágeno, que pasarían al torrente sanguíneo. Su concentración sérica refleja, por tanto, los cambios en la síntesis de las nuevas moléculas colágenas procedentes de los osteoblastos y los fibroblastos. Los productos fraccionados de este proceso son el CICP (propéptido Carboxi-terminal del procolágeno 1) y el PINP (propéptido N-terminal del colágeno 1).

Hay que tener en cuenta que no todo el procolágeno tipo I circulante procede del hueso, ya que también es un componente de la piel, las encías, los tendones, el cartílago, el intestino, etc. Estas extensiones de péptidos de procolágeno tipo 1 pueden ser detectadas por radioinmunoanálisis donde se reconoce la terminación carboxilo de los péptidos liberados y reflejan la cantidad de matriz ósea sintetizada. La cuantificación de PICP y el PINP dan una idea de la velocidad de síntesis del colágeno tipo I y se ha demostrado que guardan relación con la velocidad de crecimiento en niños sanos y aquellos tratados con GH. Como otros marcadores presenta variaciones circadianas. (68, 99-102)

### 7.2 Fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP).

Las fosfatasa ácidas son un grupo de enzimas lisosomales, con 6 isoenzimas conocidas, entre las que destaca el tipo 5, resistente a la inhibición por tartrato, que se encuentra en el hueso, el bazo, la placenta, los macrófagos pulmonares y la piel.

Es una enzima del osteoclasto que parece estar relacionada con la degradación de la matriz ósea. Se encuentra elevada en situaciones de aumento de *turnover* óseo, pero su especificidad y sensibilidad son bajas, ya que otras células, además de los osteoclastos, presentan actividad TRAP. Su elevación en situaciones de baja resorción ósea, como la osteopetrosis, cuestiona su utilidad como marcador de la actividad osteoclástica. (68, 102-105).

### 7.3 Fosfatasa alcalina

La fosfatasa alcalina es una glicoproteína tetramérica que pertenece a una gran familia de proteínas unidas a las membranas celulares plasmáticas mediante un grupo glicofosfatidil-inositol carboxilo terminal. Tiene una vida media de 1-2 días, lo que contribuye a que su variación diurna sea mínima.

En suero circula como un dímero con dos sitios activos simétricos y su actividad comprende a la de varias isoformas que se originan en diferentes tejidos (hígado, hueso, intestino, bazo, riñón, placenta o por expresión de tumores) siendo las dos fracciones mayoritarias las fosfatasas ósea (FAO) y hepática. En condiciones normales los niveles sanguíneos de FAO corresponden a sólo el 40% de la fosfatasa alcalina total, el resto es fundamentalmente hepático aunque en ciertos casos pueden encontrarse fracciones significativas de naturaleza intestinal o placentaria (4). En niños y adolescentes la isoenzima predominante es la FAO que puede alcanzar un nivel entre 70% y 90% de la fosfatasa alcalina.

Las isoenzimas hepáticas y ósea son idénticas en su composición aminoacídica pero modificaciones pos-traslacionales hacen que presenten distinta movilidad electroforética, reactividad frente a la lecitina de germen de trigo, susceptibilidad al calor e inhibición química. Estos métodos se utilizan para separarlas.

Los niveles de fosfatasa alcalina ofrecen una relación con la actividad osteoblástica, sin embargo es un marcador inespecífico de hueso. La actividad poblacional sérica de fosfatasa alcalina presenta una variación mayor que la intraindividual, por ello no es

posible detectar cambios menores en su concentración. Esto hace que carezca de sensibilidad y especificidad en condiciones en las que el nivel de incremento del remodelamiento óseo es mediano, como en la osteoporosis. Por su fácil realización y bajo costo se continúa utilizando para evaluar cambios en el remodelamiento en sujetos con función hepática normal.

La isoforma ósea es sintetizada por los osteoblastos maduros y sus precursores. Aunque su función precisa no ha sido aún bien establecida es sabido que juega un rol importante en la formación e iniciación de la mineralización ósea. Por ello, la medición de su actividad en suero es una medida indirecta del proceso de formación, más sensible y específica que la de fosfatasa alcalina.

La determinación sérica de FAO presenta poca variabilidad entre sujetos, baja variabilidad metodológica y biológica. En osteoporosis con bajo remodelado no es muy sensible aunque su mayor utilidad radica en detectar el incremento del remodelamiento óseo durante la postmenopausia. En la actualidad, la sensibilidad y especificidad clínica de FAO se ha incrementado por la disponibilidad comercial de inmunoensayos con anticuerpos monoclonales específicos. (68, 102, 105-107).

#### 7.4 Osteocalcina

Es una proteína no colágena secretada por el osteoblasto y, por tanto, es aceptada como marcador de la actividad osteoblástica o de la formación ósea. Su papel exacto en el remodelado óseo no ha sido definido.

También conocida como *bone gla protein* (BGP), es la proteína no colágena más abundante de la matriz extracelular.

Las concentraciones séricas de osteocalcina son mayores en niños y adolescentes, con un pico máximo en la pubertad. En el adulto permanecen estables, y en la mujer aumentan a partir de la menopausia y en el varón a partir de los 60 años. Presenta un ritmo circadiano caracterizado por el descenso de su concentración por la mañana, con valores mínimos al mediodía y un aumento paulatino por la tarde, con un pico máximo a medianoche. Su muestra debe ser conservada congelada, y fenómenos como la hemólisis o cifras elevadas de lípidos alteran sus valores

Se considera el mejor marcador de remodelado óseo (donde se encuentra elevada) y, recientemente, su forma incompletamente descarboxilada ha mostrado ser predictora del riesgo de fractura en la cadera. (68, 101, 102, 105, 108).

#### 7.5 Osteoprotegerina (OPG)

La OPG, también conocida como factor de inhibición de la osteoclastogénesis (OCIF) o como TNFRSF11B, es un nuevo miembro de la superfamilia de los receptores del factor de necrosis tumoral (TNFR) que tras su síntesis no permanece anclada en la membrana, sino que es secretada a la circulación. Se sintetiza en hueso, pulmón, corazón, riñones, hígado, intestino, estómago, cerebro, glándula tiroides y médula espinal. A nivel óseo su principal función parece ser la inhibición de la maduración y activación de los osteoclastos. La OPG se interpone entre RANKL y RANK e inhibe así la diferenciación y activación de los osteoclastos. La expresión diferencial de estas proteínas, RANKL y OPG, parece desempeñar un papel preponderante en la regulación del remodelado óseo. La mayoría de los factores que modulan el RANKL afectan inversamente a la síntesis de OPG. (71, 109-111)

#### 7.6 $\beta$ -Cross-Laps ( $-\beta$ CTX)

Proviene de la región telopeptídica carboxiterminal del colágeno tipo 1 (contiene un aminoácido, el aspártico en forma isomerizada  $\beta$ ). Presenta una de las mejores eficiencias diagnósticas en la osteoporosis, hiperparatiroidismo, hipertiroidismo y en metástasis óseas, pero no en la enfermedad de Paget (por deficiente isomerización del colágeno en estos pacientes). Es estable en orina 7 días a 4°C. Puede determinarse también en suero presentando menor variabilidad biológica que en orina y una buena sensibilidad diagnóstica; puede también ser útil para la monitorización de tratamientos y para la predicción del riesgo de fracturas(71, 112, 113).

#### 7.7 Índice calcio-creatinina en orina

La excreción urinaria de calcio proporciona información sobre la tasa de resorción ósea. Se encuentra influida por diversos factores, como la ingesta cálcica, la absorción intestinal de calcio y el umbral renal de calcio. Por ello, su sensibilidad es baja y sólo es útil en la clínica en casos de resorción ósea marcada. Se calcula en la primera orina de

la mañana. Los límites superiores normales de excreción urinaria en una muestra de orina es a 0,2 (98, 102, 114).

### 7.8 Hidroxiprolina e hidroxilisina

Estos marcadores son dos tipos de aminoácidos hidrolizados que se localizan en las moléculas de colágeno y elastina. Se produce por hidroxilación de la molécula de prolina y lisina y se consideran unos marcadores específicos de catabolismo del colágeno de los diferentes tejido, no sólo óseo. El 90% de hidroxiprolina es liberada durante la degradación del colágeno tipo I, pasa a circulación, se metaboliza en el hígado y posteriormente es excretada en la orina donde se encuentra en forma libre sólo en un 10%. El mayor porcentaje corresponde a hidroxiprolina unida a péptidos por lo cual para su determinación colorimétrica es indispensable una hidrólisis previa. Su excreción es mayor en niños que en adultos y además puede estar influida por el contenido de carne o gelatina de la dieta, por lo que debe realizarse una dieta exenta de productos que la aporten durante las 48 h previas a la recolección de orina.

Sólo el 10% de la hidroxiprolina proviene del colágeno tipo I degradado del hueso ya que otras proteínas la aportan, entre ellas el componente C1q del complemento o bien de colágeno recientemente sintetizado. Parte de este aminoácido se metaboliza y reutiliza para la síntesis de nuevas proteínas lo que determina que sea un marcador inespecífico para determinar la degradación del tejido óseo.

La mayoría de los métodos utilizados para su detección son engorrosos lo que aumenta su variabilidad con un coeficiente de variación entre 10 a 12%.

Como los niveles de hidroxiprolina urinaria reflejan básicamente la cantidad de este aminoácido proveniente de la resorción ósea de colágeno sintetizado recientemente, esto hizo que su uso primordial haya sido determinar la actividad y seguimiento de la enfermedad de Paget. En osteoporosis presenta baja sensibilidad ya que existe gran sobre-exposición con los valores obtenidos en muestras de sujetos normales y si bien la determinación de hidroxiprolina urinaria fue el marcador de resorción histórico, con el tiempo ha sido reemplazado por otros más sensibles y específicos de hueso.

La hidroxilisina es glicosilada e integrada en el colágeno en dos formas: galactosyl-hidroxilisina y glicosil-galactosil-hidroxilisina. Ambos componentes son liberados a la circulación durante la degradación del colágeno y se excretan por la orina, constituyendo el 80% de la hidroxilisina urinaria excretada. Sus cifras no parecen estar influenciadas por la ingesta de colágeno y no sufre ningún tipo de metabolismo tras la liberación del colágeno (68, 101, 115).

### 7.9 Piridolina/Desoxipiridolina

Los puentes de piridolina han sido los marcadores de reabsorción ósea más medidos en los últimos años. Proceden de tres residuos de moléculas del tropocolágeno que se condensan para formar un anillo de piridolina (*crosslink*). Por su estructura pueden dividirse en puentes de piridolina (Pyr), formados por dos residuos de hidroxilisina y uno de lisina, y deoxipiridolina (D- Pyr), formados por tres residuos de hidroxilisina. La Pyr se localiza en el hueso y el cartílago, y en pequeñas cantidades en otros tejidos, mientras que la D-Pyr procede exclusivamente del hueso y la dentina. No obstante, como el recambio de colágeno en los otros tejidos es escaso, se acepta que la mayoría de la Pyr y, sobre todo, la D-Pyr son de origen óseo. Esto explica la magnífica correlación existente entre la excreción de Pyr y la tasa de resorción ósea medida por estudios de cinética de calcio, y entre la tasa de D-Pyr y estudios de resorción ósea mediante radiotrazador.

Aunque están presentes en la dieta, no se absorben, y se excretan por orina en forma libre en el 30% o unidas al péptido aminoterminal. Su determinación se realiza mediante Cromatografía líquida de alta afinidad o enzimoimmunoanálisis.

Están aumentadas en todas las situaciones que cursan con un incremento de remodelado óseo. Su producción no está interferida por la dieta y sufren variación circadiana, siendo sus valores más altos en la mañana que en la tarde. (101, 102, 116-118)

### 7.10 Telopéptidos

En los procesos de resorción ósea, los osteoclastos liberan minerales y fragmentos del colágeno. Algunos de estos fragmentos peptídicos de los extremos amino o carboxiterminales no presentan la estructura helicoidal típica de la fibra de colágeno, las

regiones telopeptídicas, que se unen a los puentes piridolínicos y pasan a la circulación. Según las fracciones que engloben se denominan:

1. Péptidos carboxiterminales del colágeno tipo I (ICTP, CTX). Constituyen la fracción conjunta de las regiones carboxiterminales de la región  $\alpha$ -1 y los puentes de piridolina.
2. Péptidos aminotermiales del colágeno tipo I (INTP, NTX). Constituyen la fracción conjunta de las regiones carboxiterminales de las cadenas  $\alpha$ -1 y  $\alpha$ -2 junto a los puentes de piridolina.

Ambos pueden ser determinados en la orina mediante técnicas de radioinmunoanálisis o inmunoenzimoanálisis. El Telopéptido aminoterminal del colágeno tipo 1 (NTX) procede directamente de la proteólisis osteoclástica y no sufre degradación posterior siendo eliminada por la orina y es estable 7 días a 4°C. Este marcador se ha revelado como uno de los que presenta mayor sensibilidad, especificidad y valor pronóstico, por lo que puede utilizarse también en el seguimiento y control de respuesta al tratamiento. Su determinación se realiza con la segunda orina de la mañana. Debido a la dificultad para la recolección de la orina, especialmente en niños se han desarrollado métodos de análisis en sangre. Entre ellos destaca la determinación del Telopeptido Carboxiterminal del colágeno tipo 1 (CTX) mediante inmunoensayo (crossLaps TM), basado en dos anticuerpos monoclonales contra la secuencia de aminoácidos, que ha mejorado la especificidad de la determinación. En resumen, se consideran como marcadores más sensibles y específicos de la actividad osteoclástica que la hidroxiprolina o los puentes de piridolina (100-102, 119).

#### 7.11 Catepsina K.

La Catepsina K es un miembro de la familia de las cisteínas proteasas que, a diferencia de otras catepsinas, tiene la capacidad única de cortar las regiones helicoidales y telopeptídicas del colágeno tipo I.

Estudios inmunocitoquímicos demostraron que la catepsina K se encuentra intracelularmente en vesículas, gránulos y vacuolas en el citoplasma de los osteoclastos y es secretada dentro de las lagunas de resorción ósea donde participa de la degradación extracelular del colágeno. Debido al hecho de que la catepsina K es expresada y secretada por osteoclastos durante la resorción ósea activa, actualmente es considerada



un marcador de la actividad osteoclástica (68)

## 8. Marcadores de resorción en la celiaquía

Desde el punto de vista teórico, los pacientes celíacos deberían presentar en el momento del diagnóstico marcadores incrementados de síntesis ósea (osteocalcina, propeptido I procolágeno, y fosfatasa alcalina específica ósea) y de resorción (telopectido I colágeno, N-telopectido-crosslink urinario y el C-telopectido-crosslink urinario e hidroxiprolina urinaria). (32, 38, 120) De todos estos marcadores los más usados son la fosfatasa alcalina ósea, la osteocalcina y el propéptido I procolágeno como indicadores de formación ósea y el N-telopectido-crosslink urinario (desoxipiridolina en orina) y el C-telopectido-crosslink sérico (telopéptido carboxiterminal del colágeno tipo I), así como el índice calcio/creatinina en la primera orina de la mañana, como marcadores de resorción ósea al ser los que guardan mejor relación con la DMO. Sin embargo, el hallazgo de la disminución de los marcadores de aposición o la elevación de los de destrucción ósea no diagnostican la osteoporosis, ya que se trata de procesos dinámicos que pueden ser compensados en cortos periodos de tiempo. Su determinación está especialmente indicada en el seguimiento de la intervención de pacientes con osteopenia/osteoporosis, ya que son capaces de detectar cambios óseos en menos de 3 meses, mientras que otras técnicas requieren 6-12 meses. La determinación de estos marcadores en la infancia presentan varios problemas como son la determinación de rangos de normalidad, el establecer su ritmo circadiano y el conocer el grado de especificidad y sensibilidad en cada etapa del crecimiento (12, 62) Los niveles elevados de PTH son los responsables de esta aceleración del turnover óseo que puede ser corregido con el tratamiento dietético. (32)

## II. DENSITOMETRIA OSEA

### 1. Características técnicas del examen.

#### 1.1. Densitometría radiológica de doble energía (Hologic QDR X-ray 4500W Bone Densitometer)

La densitometría radiológica de doble energía es el método que ha alcanzado mayor difusión para cuantificar la masa ósea. Se han utilizado diversas siglas para su denominación derivadas de la sinonimia empleada en la literatura y por los fabricantes:

Dual X-ray absorptiometry (DXA), dual energy X-ray absorptiometry (DEXA), Quantitative digital radiology (QDR).

a. Principio de funcionamiento:

Los diferentes densitómetros DEXA existentes se basan en el mismo principio: generación de una imagen digitalizada en función de la atenuación de dos haces colimados de rayos X de alta y baja energía de un determinado sector anatómico. Aunque existen diferencias en tipo de filtros, número de detectores y emisores de rayos X, sistema de calibración y algoritmos para la selección de áreas de interés, son estos dos últimos los responsables de que no sean absolutamente equiparables los valores obtenidos por los diferentes densitómetros.

El densitómetro consta de: a) *Unidad de exploración*, integrada por tubo de rayos X, un sistema de detección de radiaciones gamma -que se desplazan sincronizadamente a lo largo de la superficie de exploración donde se sitúa el paciente- un ordenador encargado de gobernar el sistema, producir la digitalización y análisis de imagen y, finalmente aportar los datos densitométricos; b) *Consola de control* provista de monitor de visualización de imágenes, teclado de control del ordenador con videoimpresora y un sistema de conservación de datos.

El sistema de rayos X está formado por un tubo emisor que emite de forma pulsátil 2 haces de 100 y 140Kev colimados, con una radiación mínima (1-5 mrem). El sistema de generación de imagen se basa en una escala digital proporcional al conteo de radiación efectuado por los cristales de  $\text{CdWO}_4$  que posteriormente se refleja en pantalla en una escala de blanco-grises.

La densitometría (DXA) se basa en la atenuación que sufre un doble haz de rayos X al atravesar el tejido óseo. El cálculo de la densidad se realiza a través de un proceso matemático que se inicia con la diferenciación del tejido óseo respecto a los tejidos blandos-diferencial de la captación del haz de baja y alta energía-, determinación del área explorada (AO, en  $\text{cm}^2$ ), determinación del contenido mineral (CMO, en gramos), y con el cociente de ambos, la densidad por unidad de superficie (aDMO, en  $\text{g/cm}^2$ ). Los lugares de referencia para su realización son el cuello femoral y/o las vértebras lumbares L2-L4.

El procedimiento operativo se inicia con la colocación del paciente en decúbito supino sobre la unidad de exploración, desprovisto de cualquier objeto metálico sobre las áreas a explorar. En el caso de la exploración de la columna lumbar se corrige la lordosis de la misma mediante la elevación de los miembros inferiores sobre un soporte de goma espuma, con una angulación de  $45^\circ$  del fémur respecto al plano de exploración. En el caso de la exploración de la extremidad proximal del fémur se coloca una férula de rotación interna de unos  $10^\circ$  en el pie homolateral para corregir la discreta rotación externa a que está sometida la articulación de la cadera.

Una vez colocado el paciente, se sitúa el eje fuente-detector en la perpendicular a la 5ª vértebra lumbar (unos 2-3 cm debajo del ombligo) o en la zona media femoral con la ayuda de un localizador provisto de una emisión láser; en columna lumbar o cadera respectivamente. Se determina el campo de exploración de unos 15–20 cm de largo y 10-15 cm de ancho, en función del tamaño del paciente, y se efectúa un barrido en líneas (0.5 líneas/mm) con una resolución de 1mm y velocidad de barrido de menos de 21mm/s. (Tabla 11).

Uno de los problemas de densitometría radica en la forma de expresar la DMO: densidad por unidad de superficie o por área ósea proyectada, que si bien facilita la comparación entre individuos de distinta talla corporal y ósea, no representa el verdadero contenido volumétrico. Se presupone de manera incorrecta, que la cantidad de mineral y el área ósea son directamente proporcionales, cuando en realidad lo que influye es no sólo la superficie sino el volumen global del hueso, por lo que se han desarrollado modelos matemáticos para obtener la DMO volumétrica en g/cm<sup>3</sup>. Este problema conlleva que en pacientes en crecimiento se tienda a infraestimar el verdadero valor de la DMO en huesos pequeños y a sobrevalorarlo en huesos grandes. (Ilustraciones 11 y 12). Por tanto se debe de tener presente la talla ya que por ejemplo un paciente con una DMO alta puede ser un valor falso debido a un tamaño óseo también grande y a su vez un niño pequeño para su edad puede tener una DMO baja por el simple hecho de tener los huesos “pequeños”. Otro de los problemas de la DXA es su incapacidad para discriminar entre hueso trabecular y cortical. (55, 56, 120-123)

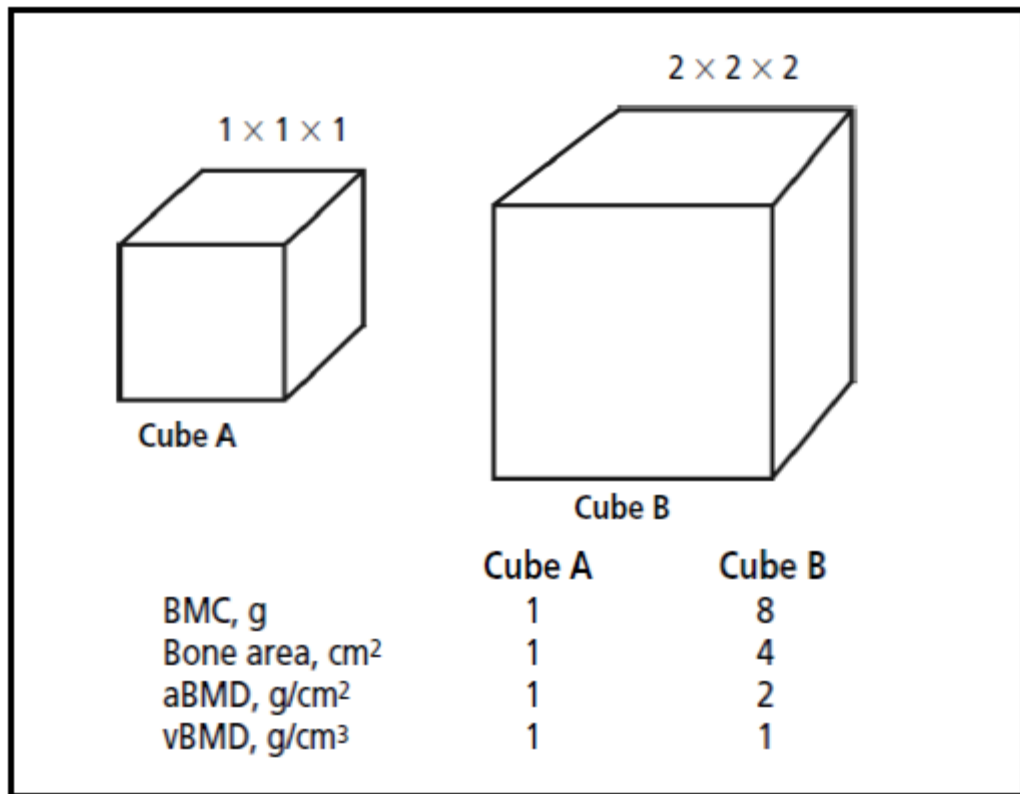


Ilustración 11. Efecto del tamaño óseo en los resultados de la DXA. Huesos pequeños (ejemplo, cubo A) tendrán una menor área de DMO (aDMO) a pesar de tener un volumen similar a un hueso grande (ejemplo cubo B.) Abreviaturas: BMC- Contenido mineral óseo; aBMD: área de Densidad mineral ósea; vBMD: Densidad mineral ósea volumétrica. Tomado de Henwood. Ref (121).

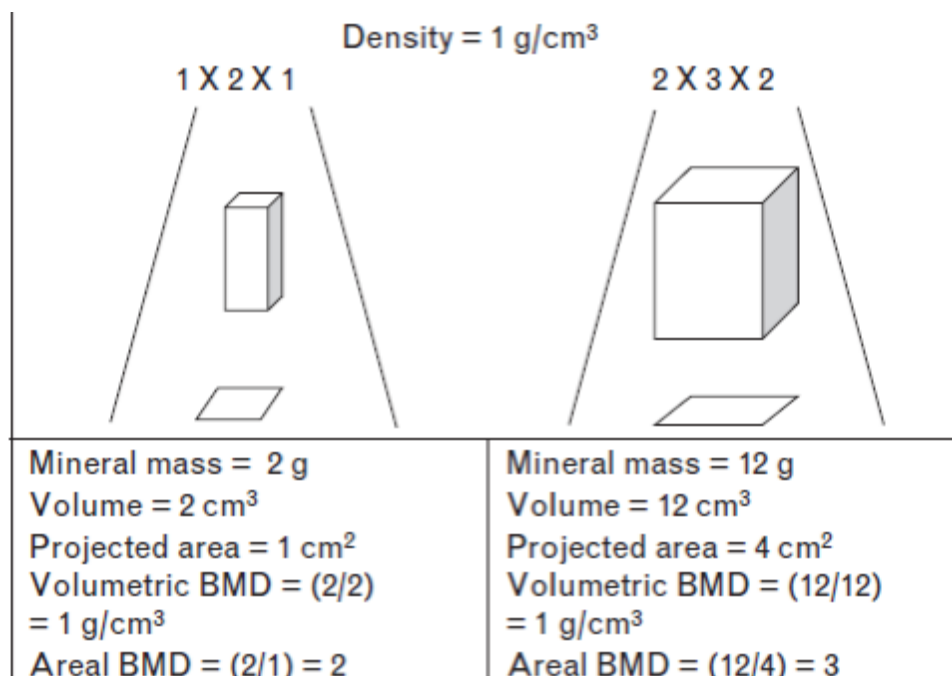


Ilustración 12. Impacto del tamaño óseo en la medida de la DXA. Dos huesos con la misma densidad mineral y diferentes volúmenes tienen diferente área de DMO (BMD) (g/cm<sup>2</sup>) pero equivalente densidad volumétrica ósea (g/cm<sup>3</sup>) Tomado de Ref (57)

En la actualidad existen otras técnicas que están adquiriendo cada vez más peso en este campo como son los ultrasonidos (US) y la tomografía computarizada tridimensional (QCT, por sus siglas en inglés, Quantitative Computerized Tridimensional Tomography). El US no mide la masa ósea. Los parámetros que mide el US son la atenuación o BUA (Broadband Ultrasound Attenuation) y la velocidad del sonido a través del hueso o SOS (Speed of Sound). Si la disminución de la masa ósea es el determinante principal de la osteoporosis y, ésta es medida en g/cm<sup>2</sup> por los estudios DEXA, no se puede hacer diagnóstico de osteoporosis con esta técnica. A pesar de ello ha demostrado ser un buen método para predecir el riesgo de fractura, (la FDA aprobó la utilización del US con esta indicación) por lo que podría ser usada como tamizaje para seleccionar candidatos a estudios DEXA. La tomografía computarizada tridimensional brinda resultados precisos de determinaciones separadas de densidad ósea trabecular y compacta, y posee una resolución espacial alta lo cual permite el análisis “compartimental” de las estructuras óseas, con un coeficiente bajo de variación y dosis mínima de radiación (< 5 mREM). Este método es adecuado para el estudio de la masa ósea. El análisis de la textura ósea puede demostrar la cualidad y resistencia óseas, ya que mide densidad ósea en áreas que pueden verse afectadas por el tamaño de los huesos. Aunque se revela como uno de los métodos más precisos en medición de resistencia ósea y, posiblemente sea en el futuro la base de los criterios del riesgo de fractura, es aun una prueba de costes astronómicos que presenta grandes dificultades instrumentales. Por todo esto, ha sido la DEXA la técnica de referencia para el estudio de la masa ósea en la actualidad (124, 125).

<b>TABLA 11.- Densitómetro Hologic QDR X-ray 4500W Bone.</b>		
<b>Características</b>	<b>QDR 450</b>	<b>Observaciones</b>
<b>Fuente</b>	3 <sup>a</sup> generación, sistema multidetectores consistente en cristales de CdW04 acoplados a diodos de silicio	Mejora la precisión, rapidez y la calidad de la imagen
<b>Detectores</b>	64	
<b>Control de calidad</b>	2 minutos con representación gráfica de resultados	Permite al operador evaluar la precisión y la estabilidad del equipo.
<b>Cilindro de</b>	Calibración continua, interna y automática	HOLOGIC usa un sistema de calibración interna mediante la

calibración		comparación de los valores conocidos del estándar con los desconocidos del paciente.
Precisión in vivo:		
Columna	0.76%	
Cadera	0.91%	
Antebrazo	1%	
Cuerpo completo	1%	
Columna lateral	1%	
Tiempo de scan:		
Columna	15s	
Cadera	15s	
Antebrazo	30s	
Cuerpo completo	180s	
Columna lateral	120s	
Area útil	195cm x 65cm	
Energías Rx	140/100	Permite mejor diferenciación entre tejido óseo y tejidos blandos
Enfriamiento tubo	No precisa	
Imagen	Dual y mono energías	Puede elegirse que forma de mostrar la imagen se prefiere.

## 2.- Parámetros, valores de referencia e interpretación de los resultados.

### 2.1 Parámetros de medida de la masa ósea:

- BMM (Bone mineral mass) o BMC (Bone mineral content): cantidad de hueso mineralizado expresado en gramos.
- BMA (Bone mineral are mass): cantidad de hueso mineralizado por unidad de área expresado en gr/cm<sup>2</sup> (en la práctica se utilizan las siglas DMO (densidad mineral ósea) o BMD (bone mineral density) para expresar la BMA, también llamada densidad mineral ósea aparente).

- BMD (Bone mineral density): cantidad de hueso mineralizado por unidad de volumen expresado en  $\text{gr}/\text{cm}^3$  (sólo es capaz de medirlo la Tomografía computerizada cualitativa o QCT)

## 2.2 Valores de referencia:

Además de medir la masa ósea de un determinado individuo en términos absolutos permite la comparación de ésta con valores de referencia poblacionales. Para este estudio se utilizó los datos pediátricos de población española aportados por Yeste et al.

En el informe se presentan además de los datos biográficos del paciente, el coeficiente de variación, los datos del área, contenido mineral (BMC en gramos) y de densidad ósea ( $\text{gr}/\text{cm}^2$ ), la representación gráfica de su comparación con pico de masa ósea de adultos jóvenes (t-score) y comparación con personas sanas de su misma edad y sexo (z-score).

## 2.3 Interpretación de resultados:

La densidad mineral ósea es un parámetro biológico que sigue una distribución continua en el que resulta difícil establecer un punto de corte a partir del cual pueda hablarse de una situación anómala o patológica y que permita claramente predecir la aparición de fracturas osteoporóticas y por tanto un umbral de tratamiento. En este sentido, cualquier definición de anormalidad en la densidad ósea debería tener en cuenta el nivel de riesgo de eventos adversos asociados a cada valor y el objetivo del diagnóstico, como ocurre con el peso o la masa corporal, la tensión arterial o el nivel de colesterol(126).

Escala T (t-score): la comparación se establece entre la masa ósea (MO) individual y la MO de adultos jóvenes (20-35 años) y sanos del mismo sexo (pico de osificación). Esta puntuación se expresa en forma de porcentaje y de número de DS en que ese valor se separa de la media de la MO de los valores de referencia. Se obtiene a partir de la MO del paciente menos el valor medio de la MO en los adultos jóvenes dividido por la DS de la MO de los adultos jóvenes del mismo sexo. Así, en adultos, se habla de osteoporosis cuando el T-score está por debajo de -2,5 DS, y de osteopenia cuando se

encuentra entre -1 y -2,5 DS. Estudios prospectivos han sugerido que el riesgo de fractura se incrementa por un factor de 1,4 a 2,6 por cada DS que disminuya la DMO. (32, 38, 41, 43, 57, 121, 122, 127). Existen estudios que indican que un mayor grado de afectación histológica se correlaciona con una mayor pérdida ósea en la densitometría, (38) aunque otros no han encontrado esta relación (42)

Escala  $\bar{Z}$  (z-score): la comparación se establece entre la MO individual y la MO de individuos de la misma edad y sexo. Esta puntuación se expresa en forma de porcentaje y de numero de DS en que ese valor se separa de la media de la MO de los valores de referencia. Se obtiene a partir de la MO del paciente menos el valor medio de la MO de individuos de la misma edad y sexo dividido por la DS de la MO de la población sana de la misma edad y sexo(125, 126)

En niños y adolescentes la definición de osteoporosis no está tan clara como en los adultos, así como el valor de referencia. En general se acepta que sea el Z-score el índice usado y siguiendo las directrices de la Sociedad Internacional de Densitometría Ósea, el diagnóstico de osteoporosis no debe hacerse en niños basado sólo en parámetros de densitometría. Así, cuando la DMO o el CMO se encuentra por debajo de -2 DS ajustado a sexo, edad y talla se habla de “baja densidad ósea o contenido mineral óseo para la edad” y se habla de osteoporosis cuando además existe una fractura “patológica” (que en adultos ya se consideraría una complicación). Se sospecha que puede existir una fractura “patológica” cuando existe una o más de las siguientes: fractura de un hueso largo de la extremidad inferior; fractura de dos o más huesos de extremidades superiores; fractura por aplastamiento vertebral. Cuando el z-score se encuentra entre -1 y -2 se habla de “rango bajo de normalidad”. (41, 56, 121, 122, 128) Sin embargo los Z-score no son correctos para determinar diferencias en el tamaño óseo y su maduración, por lo que deben de ser usados con precaución cuando valoramos pacientes en crecimiento, ya que se deberían considerar variables como la edad, sexo, raza, estadio puberal y composición corporal para poder realizar la comparación de los datos obtenidos. Así para una correcta valoración de la DMO o el CMO se debe comparar el sujeto con una población pediátrica de referencia que proporcione datos de z-score ajustados a peso, edad y sexo (32, 41, 121, 128) Otro dato a tener en cuenta es la posible relación existente entre la talla y la DMO, por la cual la primera se vería afectada si existe una alteración de la DMO (29)



La Sociedad Internacional de Densitometría clínica recomienda el uso del Contenido óseo total y la DMO total (excepto cráneo) y espinal (CMO total y espinal), más que la DMO o el CMO a nivel de cadera para conocer la masa ósea en pacientes con EC ya que el incremento en el tamaño óseo y la cantidad mineral ósea ocurre en diferentes etapas durante el crecimiento. Además estos valores son los más fácilmente reproducibles en el futuro. Por otro lado, la columna se compone principalmente de hueso trabecular, mientras que la masa ósea total se compone principalmente de hueso cortical; esos dos compartimentos responden de manera diferente a la enfermedad y al uso de medicación. Parece que la pérdida es mayor en los estudios de densidad ósea total que los referidos a nivel espinal, por lo que es el lugar preferido para la determinación de la densidad ósea para ver posibles cambios a lo largo del tiempo, aunque la recomendación es realizarla tanto de columna como de cadera. Otro de los consejos es hacer la valoración en relación a la edad ósea no a la edad cronológica (38, 39, 120, 128)

#### IV. PROTOCOLO DE ESTUDIO

##### 1. Justificación.

La enfermedad celiaca se asocia con la aparición de múltiples complicaciones derivadas principalmente del estado de malabsorción existente. Entre las complicaciones descritas se encuentra la alteración en la mineralización ósea, existiendo muy pocos trabajos que analicen esta alteración en los pacientes en edad pediátrica. Los datos publicados en estos estudios apoyan la idea de que la enfermedad celiaca conlleva un déficit en la mineralización ósea que puede ser corregido tras la instauración de una dieta sin gluten, si bien esta corrección puede estar condicionada por diferentes factores como el tiempo al diagnóstico, la edad del paciente, la clínica de presentación o déficit nutricionales previos o concomitantes.

La fisiopatología de esta alteración no es bien conocida. Entre las factores que se postulan se encuentran: 1) factores genéticos por el momento desconocidos, 2) alteraciones bioquímicas propias de esta enfermedad, o secundarias al proceso de malabsorción, 3) carencias nutricionales generadas por la dieta restrictiva en la que el aporte proteico de calcio, vitamina D y de fósforo pueden no alcanzar las necesidades

mínimas requeridas, 4) consecuencias de trastornos metabólicos u hormonales de la propia enfermedad.

Por otro lado, aunque los parámetros bioquímicos de remodelado óseo son fáciles de analizar y son útiles para identificar a los pacientes de riesgo de osteopenia/osteoporosis y para monitorizar el tratamiento, en la bibliografía existen pocos estudios dedicados a analizar los marcadores de remodelado óseo en los pacientes con enfermedad celiaca y su posible relación con la edad, sexo, fracturas, y corrección de la mineralización ósea. A todo esto hay que añadir la discrepancia de resultados en los escasos estudios publicados.

Son todos estos datos poco aclarados o desconocidos, y la falta de investigaciones para mejorar la calidad ósea en estos niños, lo que alienta a realizar un estudio como el que se presenta.

## 2. Hipótesis del estudio:

La realización de este trabajo se basa en las siguientes hipótesis:

- Los niños con enfermedad celiaca al diagnóstico presentan una mineralización ósea menor que los niños sanos del mismo sexo y edad. Dicho déficit se recupera tras la instauración de una dieta sin gluten.
- Los niños con enfermedad celiaca presentan unos marcadores de formación y remodelado óseo alterados al diagnóstico de la enfermedad celiaca y dichos marcadores se normalizan tras un año de dieta sin gluten.
- En los casos que no exista una recuperación de la mineralización ósea transcurrido un año de realización correcta de una dieta sin gluten, este déficit en la recuperación puede deberse a unos aportes inadecuados de los principios inmediatos, oligoelementos y/o vitaminas necesarios en la dieta.

## 3. Objetivos:

1. Determinar el estado de mineralización ósea que presentan los niños controlados en nuestro centro con enfermedad celiaca en el momento del diagnóstico, antes de iniciar dieta sin gluten.
2. Verificar si existe algún cambio en la mineralización ósea en los niños celiacos tras un año de dieta sin gluten.

3. Estudiar las posibles alteraciones existentes en los marcadores de resorción ósea al diagnóstico de la enfermedad, antes de iniciar una dieta sin gluten.
4. Analizar los cambios a nivel bioquímico de los marcadores de formación ósea en los pacientes diagnosticados de enfermedad celiaca al año de la instauración de una dieta sin gluten.
5. Analizar la ingesta de micro y macronutrientes en la dieta realizada por los pacientes celiacos y valorar en qué grado puede influir en las variaciones de la mineralización ósea de estos pacientes.

#### 4. Material y método

##### 4.1 Material.

Estudio unicéntrico observacional descriptivo prospectivo que incluye a los pacientes diagnosticados de enfermedad celiaca en la Unidad de Digestivo infantil del Hospital Virgen del Rocío de Sevilla. El periodo de estudio abarca desde el 1 de abril de 2011 hasta el 31 de junio de 2014. El periodo de estudio para cada paciente fue de 1 año.

##### 4.1.1 Población de estudio.

Niños entre 0-13 años diagnosticados de enfermedad celiaca en la unidad de Digestivo Infantil del Hospital Universitario Infantil Virgen del Rocío de Sevilla.

##### 4.1.2 Criterios de inclusión:

- o Edad: 0-13 años
- o Diagnosticado de enfermedad celiaca durante el periodo del estudio, según los criterios de la ESPGHAN.<sup>(2)</sup>
- o En seguimiento en la consulta de Digestivo infantil del HHUU Virgen del Rocío, durante un año.
- o Firma del consentimiento informado.

##### 4.1.3 Criterios de exclusión:

- o Edad igual o superior a los 14 años.
- o Diagnosticados de enfermedad celiaca durante el periodo distinto al desarrollo del estudio.
- o Diagnosticados enfermedad celiaca que ya realizan tratamiento para la misma.
- o Padecer alguna enfermedad crónica, distinta de la enfermedad celiaca.
- o Estar en tratamiento con algún tipo de fármaco, hormona o suplemento de calcio o vitamina D de forma crónica (más de 1 mes de duración)
- o Persistencia de los anticuerpos de enfermedad celiaca positivos al año del inicio de la dieta sin gluten.
- o No firma del consentimiento informado.
- o Poseer algún implante metálico en el organismo (distorsiona los datos obtenidos al realizar la densitometría).
- o Realizar algún tipo de dieta de exclusión además de la dieta sin gluten durante más de 1 mes de duración.
- o Cualquier circunstancia que impida al paciente permanecer inmóvil el tiempo necesario para la realización de la densitometría.
- o Situación clínica como la inmovilización permanente o ingesta mantenida de medicamentos que interfieran en la DMO como los glucocorticoides sistémicos.

#### 4.1.4 Tamaño muestral.

La desviación típica conocida de la población de referencia es de 0'07 g/cm<sup>2</sup>. En estudios previos la media de la variación de la DMO al año de tratamiento ha sido de 0'061 g/cm<sup>2</sup>. Aceptando un riesgo de 0'05 y un poder estadístico de 90%, se calcula el tamaño muestral para comparación de medias y una pérdida del 10% de los sujetos resultando una n= 25 sujetos.

#### 4.2 Variables estudiadas:

##### 4.2.1 Datos generales:

- Edad
- Sexo

- Raza
- Fecha del diagnóstico.

#### 4.2.2 Antecedentes personales:

- Enfermedades: se preguntó expresamente si padecen DM tipo I, enfermedades tiroideas, S Down, S Williams, S Turner o déficit de IgA.
- Tratamiento farmacológico durante el estudio
- Dieta de exclusión diferente al gluten. Se investigó la realización de dieta sin lactosa específicamente.
- Toma de lactancia materna y durante cuánto tiempo.
- Edad de introducción del gluten en la dieta.

#### 4.2.3 Antropométricas:

- Peso en kg, percentil y desviación estándar.
- Talla en cm, percentil y la desviación estándar.
- IMC y desviación estándar
- pliegue tricipital en cm y desviación estándar
- perímetro braquial en cm y desviación estándar
- Estadio de Tanner.

La valoración antropométrica se realizó mediante la aplicación nutricional de la SEGHNP (Sociedad Española de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátricas) disponible en [www.gastroinf.es/nutricional](http://www.gastroinf.es/nutricional). Se usaron las tablas de la OMS para los menores de 5 años en la valoración de peso, talla, IMC, Pliegue tricipital y perímetro braquial. Para los mayores de 5 años, se usaron las tablas de Fernández et al 2011 para peso, talla e IMC, y las de Fernández et al. 2005 para perímetro braquial y tricipital.(129)

#### 4.2.4 Clínicas

- Paciente asintomático o sintomático.
- Tiempo desde el inicio de los síntomas hasta el diagnóstico de la enfermedad.

- Síntomas:
  - o Hiporexia
  - o Diarrea
  - o Cambio de carácter
  - o Pérdida de peso
  - o Distensión abdominal
  - o Vómitos
  - o Dolor abdominal
  - o Estreñimiento
  - o Hábito malabsortivo
  - o Alteraciones del esmalte,
  - o Talla baja
  - o Artralgias o patología articular
  - o Epilepsia
  - o Ferropenia
  - o Pubertad retrasada
  - o Hipertransaminasemia
  - o Dermatitis herpetiforme.

#### 4.2.5 Histológicos.

Se recogió el estadio según la clasificación de Marsh modificada (130, 131) de las biopsias realizadas. Las biopsias se recogieron mediante endoscopia digestiva alta, realizado por un pediatra especializado en digestivo infantil, tomando 4 biopsias de segunda porción duodenal y 2 de bulbo, enviando la muestra orientada para facilitar su interpretación. La valoración anatomopatológica fue realizada por los anatomopatólogos del HHUU Virgen del Rocío, con especial dedicación al estudio de muestras digestivas.

#### 4.2.6 Datos analíticos.

- Laboratorio:
  - o Hemoglobina
  - o Hematocrito

- o VCM
- o CHCM
- o Ferritina
- o Sideremia
- o IST
- o Transferrina
- o IgA
- o IgA antitransglutaminasa y antigliadina deaminada
- o IgG antitransglutaminasa y antigliadina deaminada (en los casos de déficit de IgA)
- o HLA (sólo al diagnóstico)
- o Acido fólico
- o Vitamina B12
- o Homocisteina
- o C-telopéptido crosslink serico o telopéptido carboxiterminal del colágeno tipo I
- o PINP (propéptido I procolágeno)
- o Calcio
- o Fósforo
- o Vitamina D (vitamina D total: vitamina D2 + D3)
- o Magnesio
- o Parathormona
- o Fosfatasa alcalina total y ósea
- o Calcio y creatinina en orina

Las extracciones de sangre y las muestras de orina se realizaron entre las 8:30 y las 10:30 am para evitar alteraciones circadianas de los parámetros analizados.

Los valores de referencia para el PINP y el telopéptido carboxiterminal del colágeno tipo I son los aportados por Huang et al y Wyness et al.(132, 133)

- Microbiología (al diagnóstico):
  - o Parásitos en heces
  - o Coprocultivo

#### 4.2.7 Dietético-nutricionales.

Se recogió el % ingesta de hidratos de carbono, lípidos, proteínas, vitaminas, oligoelementos y fibra según las RDI de la Academia Nacional de Ciencias Americanas (44) mediante la realización de encuesta dietética (ver anexo 1) 3 días alternos en una semana. Uno de esos días debía ser un festivo. La valoración de estos aportes se hizo mediante el programa informático Dietsource junior®.

#### 4.2.8 Densitometría

Se realizó al diagnóstico y al año de iniciado el tratamiento. Se valoró la DMO y el CMO a nivel lumbar según el Z-score de la población de referencia, ajustado a sexo y edad. Las bases de datos de DMO en niños y adolescentes con crecimiento normal (nacionales), que sirvieron de patrón de referencia para el estudio, son las de Yeste y cols. (134) y las de Marco y cols (135). La base de Yeste y cols. cuenta con datos de DMO de columna y cadera. La de Marco y cols. cuenta con datos de DMO de columna.

El densitómetro utilizado para la realización de las densitometrías es un densitómetro radiológico de doble energía QDR 4500 tipo HOLOGIC, con fuente de 3ª generación, sistema de multidetectores (consistentes en cristales de  $\text{CdWO}_4$  acoplados a diodos de silicio) con 64 detectores. Cilindro de calibración continua, interna y automática (HOLOGIC usa un sistema de calibración interna mediante la comparación de los valores conocidos del estándar con los desconocidos del paciente). Emisión de energía de Rx 140/100 (permite mejor diferenciación entre tejido óseo y tejidos blandos). No precisa de sistema de enfriamiento del tubo. Software empleado: Windows 95NHANES, Standardized Hip referente database, Fracture risk Indication, Mental Renoval, Body composition Análisis. Hardware usado: pentium IICPU, con disco duro de 6 GB y unidad de diskette de 3.5 pulgadas 1.44MB, lector de CD ROM, puerto de entrada USB y monitor de 17 pulgadas con resolución 1280x1024.

Para la realización de la densitometría los pacientes se colocaron en decúbito supino con elevación parcial de las extremidades inferiores (sobre un soporte de goma espuma) con un ángulo de 45° del fémur respecto al plano de vértebras lumbares, disminuyendo la lordosis fisiológica de esta región anatómica. No se administró ninguna medicación sedante para conseguir su inmovilización. Las mediciones se realizaron a nivel de los



cuerpos vertebrales L1, L2, L3 y L4. Una vez colocado al paciente, se situó el eje fuente-detector en la perpendicular a la 5ª vértebra lumbar (unos 2-3 cm. debajo del ombligo) con la ayuda de un localizador provisto de un emisor láser. Se determinó el campo de exploración de unos 15-20 cm. de largo y 10-15 cm. de ancho, en función del tamaño del paciente, y se efectúa un barrido en líneas (0,5 líneas/mm) con una resolución de 1 mm y velocidad de barrido de 21 mm/s. Una vez localizada la región, la adquisición de datos es (tiempo scan) de 15 segundos aproximadamente. La dosis de exposición recibida es de 0,06 mGy.

Ambas bases de datos de DMO de referencia se encuentran en sistema LUNAR. Al ser el sistema con el que opera el densitómetro del Servicio de Medicina Nuclear de los Hospitales Universitarios “Virgen del Rocío” del tipo HOLOGIC, se aplicó la siguiente fórmula matemática para obtener tablas y valores de referencia que pudieran ser comparables a los obtenidos en este estudio.

Fórmula de conversión HOLOGIC-LUNAR en columna.

$$\text{VALOR HOLOGIC} = (0,906 * \text{VALOR LUNAR}) - 0,025$$

#### 4.3 Método.

##### 4.3.1 Estructura del estudio.

###### 1. Primera visita.

1.1. En los pacientes con sospecha de enfermedad celiaca se realizó una entrevista personal con los padres y/o representantes legales, en la que se les informó de la naturaleza y propósitos del procedimiento, beneficios, riesgos, alternativas y medios con que cuenta el Hospital para su realización. Esta información fue tramitada tanto de forma oral como de forma escrita. Una vez aclaradas las dudas, para satisfacción de los Derechos del Paciente, como instrumento favorecedor del correcto uso de los Procedimientos Diagnóstico y Terapéuticos y, en cumplimiento de la Ley General de Sanidad, los representantes y/o pacientes firmaron un formulario de Consentimiento Informado conjuntamente con un documento informativo (anexo I).

1.2. Entrega de cuestionario dietético.

- 1.3. Recogida de datos inicial: clínica y exploración física, antropometría, analítico, encuesta dietética, determinación de coprocultivo y parásitos en heces.
- 1.4. Solicitud de pruebas necesarias no aportadas por el paciente, así como de endoscopia digestiva en el caso de ser necesaria.
2. Segunda visita:
  - 2.1. Diagnóstico de la enfermedad celiaca. Se realizó en aquellos niños con clínica y marcadores de enfermedad celiaca sugerentes de la enfermedad, siguiendo las recomendaciones de la ESPGHAN.
  - 2.2. Recomendación de dieta sin gluten.
  - 2.3. Inclusión en el estudio en aquellos pacientes que reúnen los criterios adecuados.
  - 2.4. Realización de densitometría.
3. Tercera visita: (a los 4 meses de la anterior)
  - 3.1. Control clínico y analítico.
  - 3.2. Solicitud de densitometría de control y de encuesta dietética al año del diagnóstico.
  - 3.3. Solicitud de determinación de los valores analíticos de control al año del diagnóstico.
4. Cuarta visita: (al año del diagnóstico)
  - 4.1. Recogida de datos final: clínica y exploración física, antropometría, analítica, encuesta dietética y densitometría.

#### 4.3.2 Fuentes, métodos e instrumentos de recolección de datos.

- Historia clínica realizada en los pacientes diagnosticados de EC en la unidad de digestivo infantil.
- Realización de la endoscopia digestiva alta por parte del personal de la unidad de digestivo infantil.
- Realización del estudio anatomopatológico por parte del servicio de Anatomía Patológica del Hospital Virgen del Rocío de Sevilla.
- Determinación de los parámetros analíticos estudiados por parte del Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Infantil Virgen del Rocío de Sevilla.

- Realización de la densitometría ósea por parte del Servicio de medicina nuclear del Hospital Virgen del Rocio

#### 4.3.3 Metodología de análisis y proceso estadístico de los datos.

Se clasificaron los datos de cada paciente en función de la clínica, datos sociodemográficos, analíticos, de densidad mineral ósea e histológicos. Así mismo se comparan los resultados de la densitometría, los aportes nutricionales, los datos antropométricos y analíticos de cada paciente al diagnóstico y al año de la misma

Se realiza estadística descriptiva de las variables del estudio. Para ello usamos frecuencias absolutas y relativas en el caso de las variables cualitativas. Las variables cuantitativas según sigan o no una distribución normal (Shapiro-Wilk ( $n < 50$ )) se resumen mediante  $Md \pm DS$  (media, desviación estándar) y rango (mínimo y máximo) o  $P50 [P25 - P75]$  (mediana, rango intercuartílico) respectivamente.

Para analizar si la muestra se asemeja a los valores normales de la población en DMO, se compararon los valores de zscore con una t-student para medidas apareadas.

Se analizan los cambios al año de los pacientes estudiados, realizando el t-student para medidas repetidas o test de Wilcoxon, según proceda, en el caso de las variables cuantitativas, obteniendo el intervalo de confianza al 95%, para las diferencias (IC(95%)).

Se relacionó el incremento de DMO con el déficit de nutrientes, mediante diagramas de dispersión. Se determinó si existía relación entre ellas (coeficiente de correlación de Pearson o Rho de Spearman).

El nivel de significación tenido en cuenta fue de  $p < 0.05$ , utilizando el programa IBM SPSS Statistics 19.01.

#### 4.3.4 Sesgos.

Se consideran posibles sesgos que pueden interferir en los resultados del estudio:

- Un mal cumplimiento terapéutico de la dieta sin gluten. Para evitarlo se educó a la familia y al niño en cómo realizar el tratamiento y se reforzó la importancia de su buena realización. Además se realizaron controles de Anticuerpos a los pacientes. En aquellos en los que los niveles de Ac no se negativizaran al año se excluyeron del estudio.

- Una incorrecta realización de la encuesta dietética ya que depende de la adecuada realización de la misma por parte del paciente y su familia. Para evitar este problema se instruyó al paciente en su realización de manera meticulosa.

#### 4.4 Aspectos éticos.

La participación en este estudio no supuso riesgo adicional para las personas participantes, ya que se trata de un estudio epidemiológico en el que no se realiza ninguna intervención.

El estudio se realizó según las recomendaciones éticas internacionales (Declaración de Helsinki y Convenio de Oviedo), de acuerdo a la legislación vigente que rige los proyectos de investigación sin medicamentos, la ley de Investigación Biomédica del 3 de julio 2007, para lo que se presentó y fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla.

Toda información referente a la identidad de las personas participantes en el estudio fue considerada confidencial. Los datos de las personas recogidos en las encuestas durante el estudio se documentaron de manera anónima y disociada, vinculándose solamente a un código numérico.

En lo referente a los datos del estudio se siguió lo establecido en la ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre de “Protección de datos de carácter personal”.

Se obtuvo el consentimiento de los individuos para la participación en el estudio informándoles de las características y naturaleza del mismo, así como que sus datos serían recogidos y procesados garantizándose la confidencialidad de los mismos. (Anexo 1).

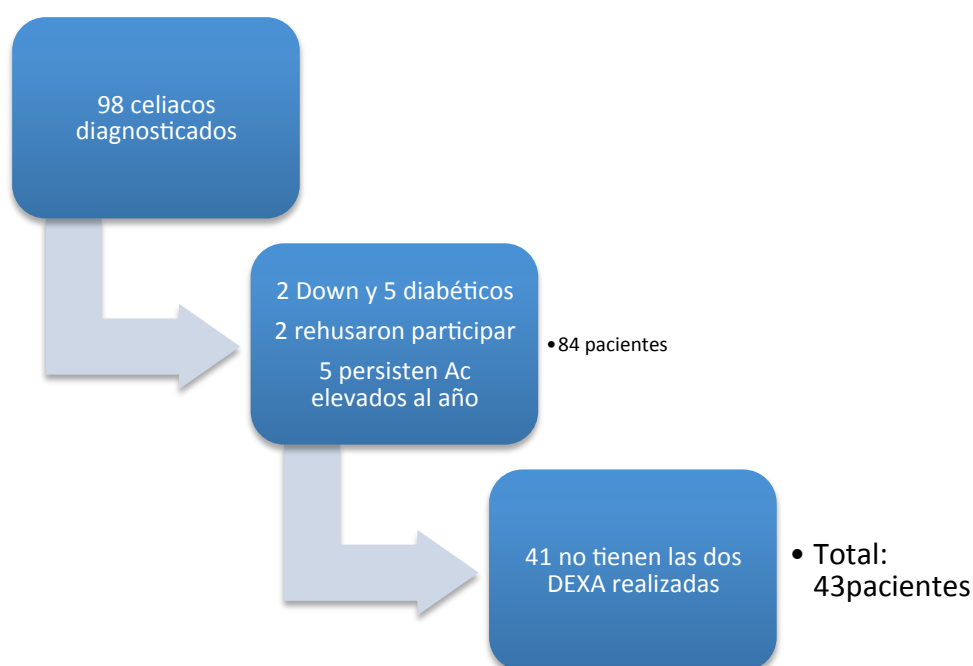
La base de datos que generó el estudio no contiene identificación alguna de las personas, tan sólo un código numérico, por el que no es posible desvelar su identidad.

## **V. RESULTADOS**

Desde el 1 de abril de 2011 hasta el 31 de junio de 2014 se diagnosticaron en nuestra unidad un total de 98 pacientes celíacos. De estos 2 fueron Síndrome de Down, 5 diabéticos, 2 rehusaron participar y 5 mantenían Ac positivos al año del seguimiento. Todos ellos se excluyeron del estudio. Se recogieron por tanto de manera prospectiva un total de 84 pacientes celíacos. De ellos 41 no tienen realizada alguna de las dos

densitometrías propuestas. Por lo tanto poseemos un total de 43 pacientes en los cuales se les ha realizado densitometría al diagnóstico y al año de seguimiento de la dieta.

(Ilustración 13)

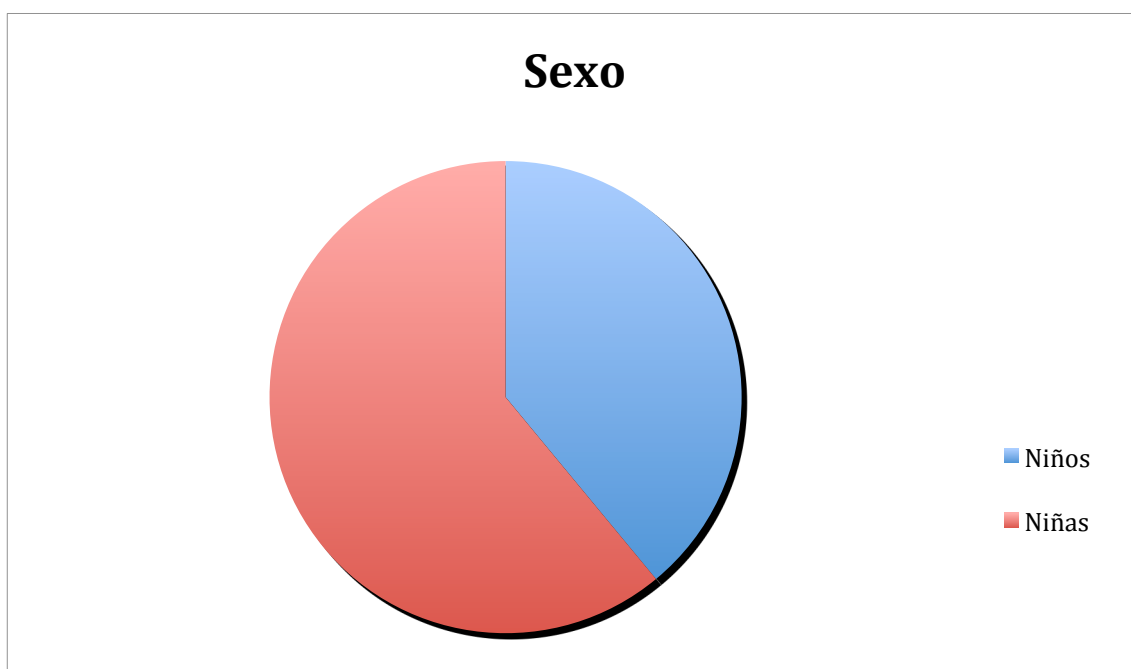


**Ilustración 13. Selección de los pacientes.**

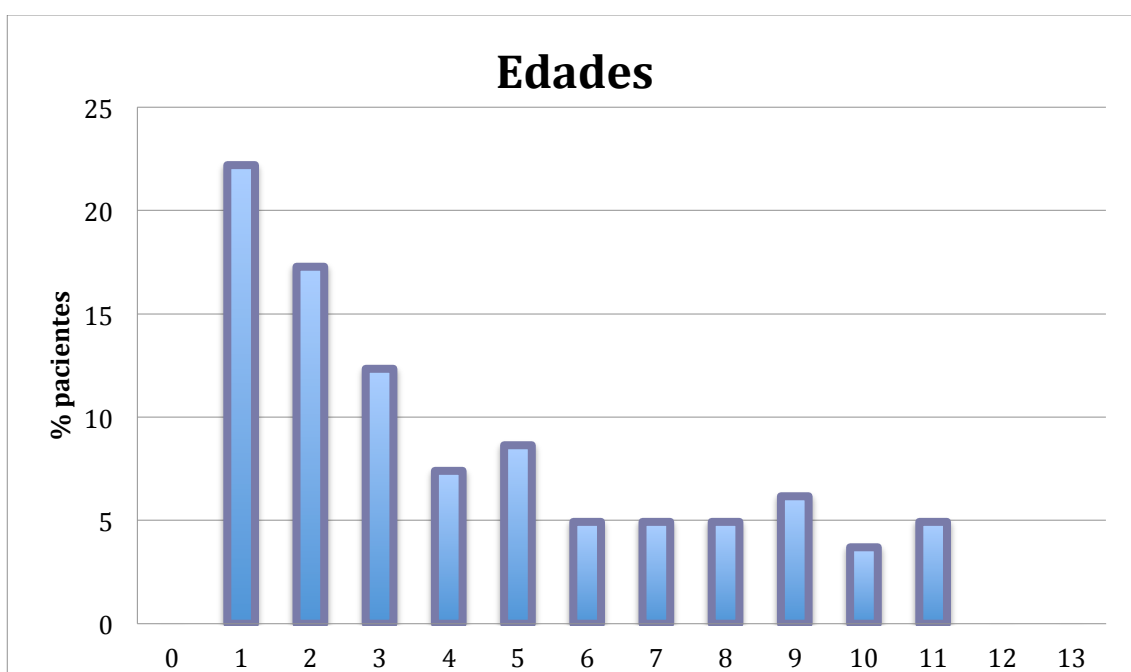
#### 1. Datos generales y antecedentes personales.

La edad media de la población estudiada es de 4,8 años (DE 3,64); 61% mujeres por un 39% hombres.(ilustraciones 14 y 15) La raza principal es la caucásica (96,47%), por un 2,3 % de raza negra y un 1,19% árabe (ilustración 16). El tiempo medio de lactancia de los pacientes es de 4,43 meses (DE 4,34). Un 30,95% introducen el gluten coincidiendo con la toma de lactancia materna, siendo la edad media de introducción del gluten los

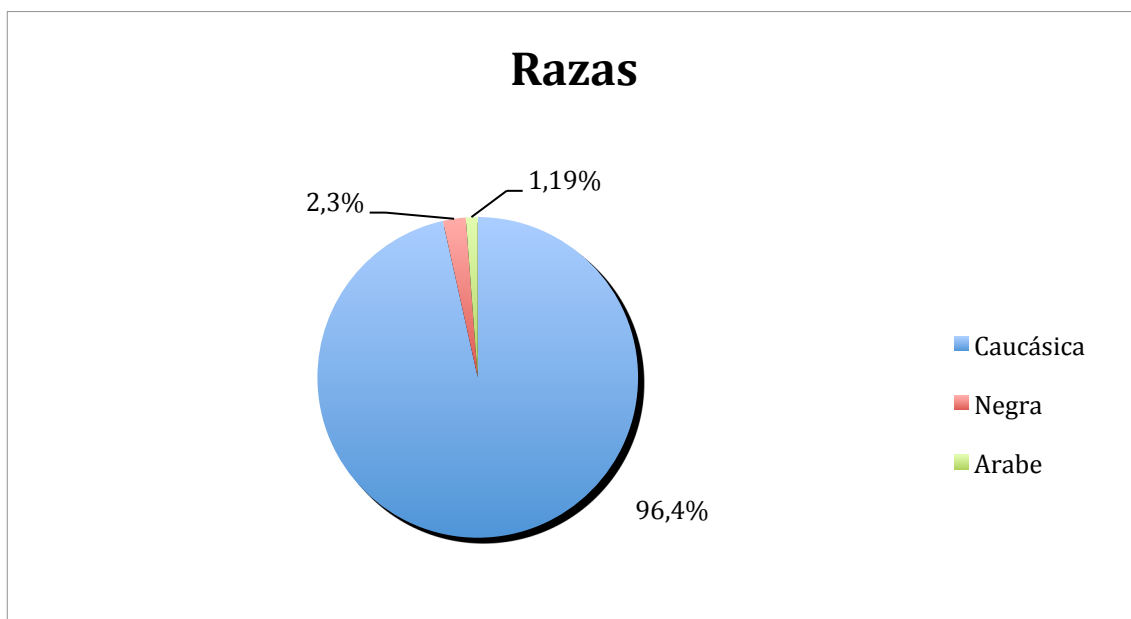
6,4 meses (DE 1,17).



**Ilustración 14. Distribución de sexos**



**Ilustración 15. Distribución de edades**



**Ilustración 16. Distribución de razas**

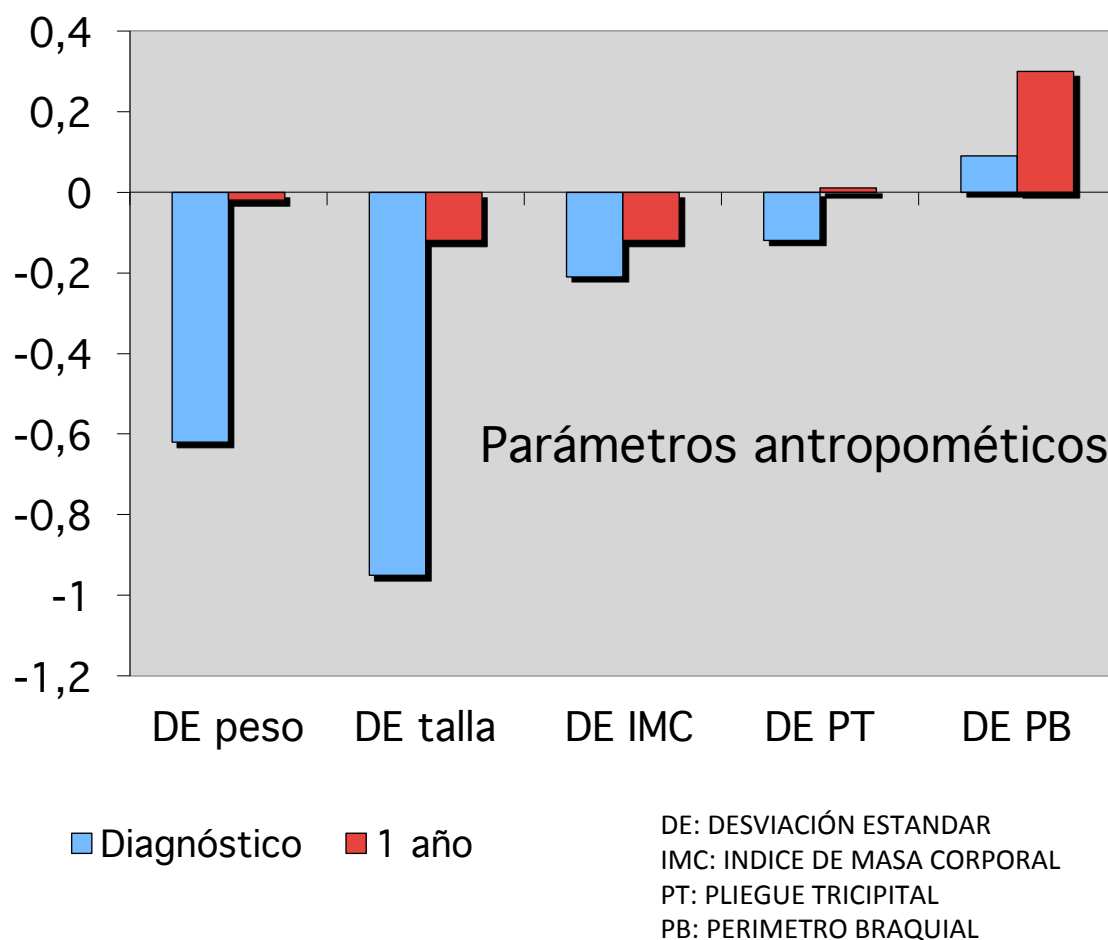
## 2. Antropometría

Existen 41 pacientes que presentan datos de antropometría al diagnóstico y posteriormente al año de seguimiento. Se encuentra un aumento significativo en el peso y la talla de los pacientes tras un año de seguimiento de la dieta sin gluten. No se encuentran cambios estadísticos en la DE del IMC (Índice de masa corporal), los pliegues tricipital y braquial y en el índice Waterlow, aunque la tendencia que marcan los resultados es a una mejoría que posiblemente se reflejara con una muestra mayor (tabla 12 e ilustración 17).

Tabla 12. Características de los pacientes.			
	Media al inicio del estudio (DE)	Media al año (DE)	Significación
Edad (años)	4,8 (3,64)		
Sexo (H / M)	39% / 61%		
DE peso	-0,62 (0,98)	-0,02 (1,03)	$p<0'001$
DE talla	-0,95 (1,27)	-0,12 (1,08)	$p<0'001$
Índice Waterlow	95,73(10,03)	98,40(11,07)	$p=0,072$
IMC	-0,21 (0'99)	-0,12 (1,06)	$p=0'46$
DE pliegue tricipital	-0,12 (0'99)	0,01 (1,14)	$p=0'49$

DE pliegue braquial	0,09 (1,27)	0,30 (1,43)	p=0'37
CMO (g)	13,28 (8,00)	16,90 (9,02)	P<0'001
DMO (g/cm <sup>2</sup> )	0,47 (0'13)	0,52 (0,13)	p<0'001
Z Score DMO	-1,41 (1,19)	-1,07 (1,12)	p<0'001
H: Hombre; M: Mujer			
IMC: índice de masa corporal			
DE: Desviación estándar			



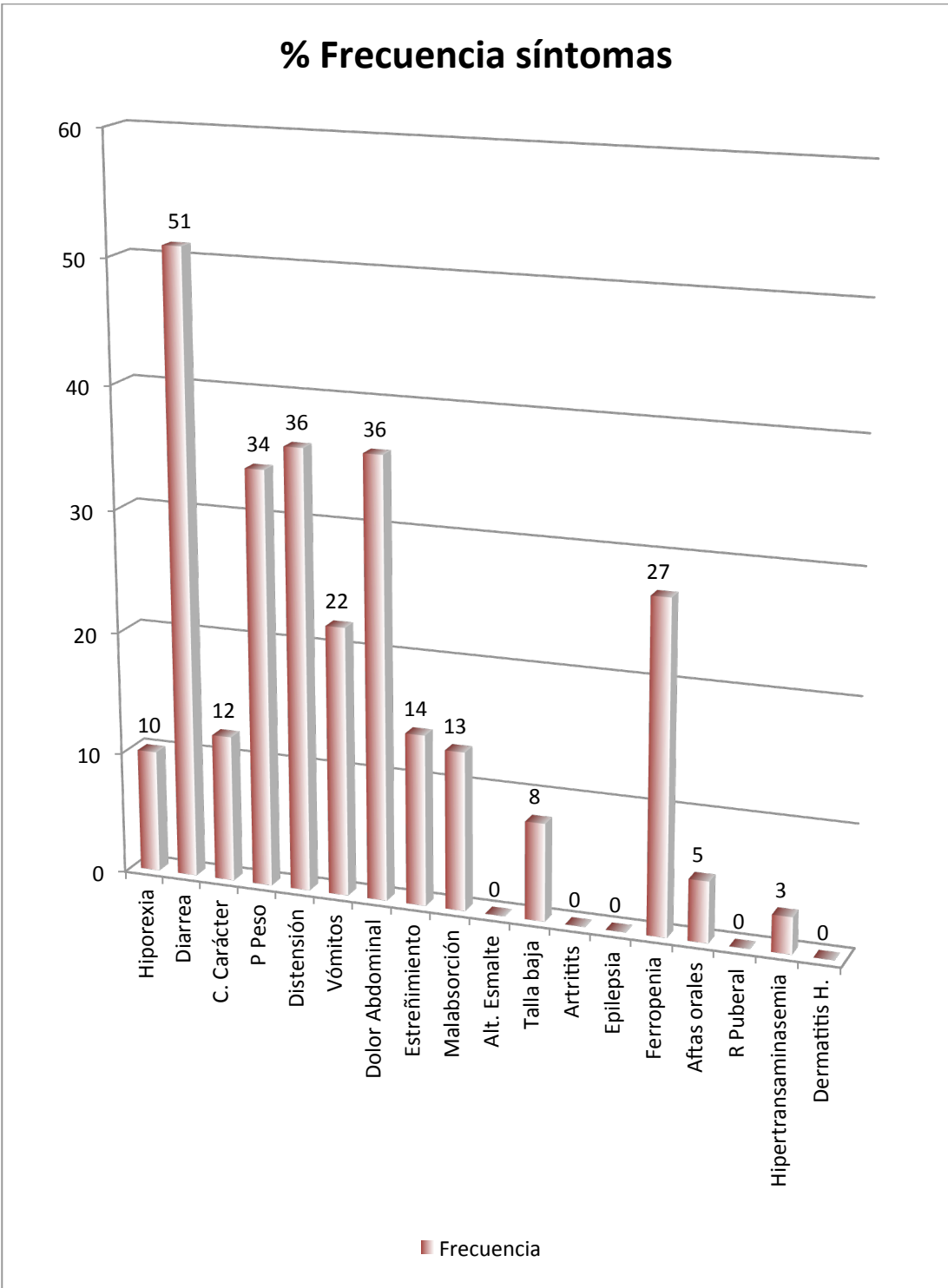


**Ilustración 17. Variación de parámetros antropométricos**

### 3. Clínica.

Del total de pacientes, un 7,14% no presentaron ningún tipo de clínica al debut. Entre los sintomáticos el tiempo medio de evolución desde el inicio del primer síntoma que generó la sospecha diagnóstica hasta la realización del diagnóstico fué de 9,4 meses. La

distribución de los síntomas se expone en la gráfica. Los síntomas y signos más frecuentes fueron la pérdida de peso, diarrea, distensión abdominal, ferropenia y el estreñimiento (ilustración 18).



**Ilustración 18. Distribución de síntomas.**

#### 4. Datos nutricionales.

El análisis de los datos aportados por las encuestas dietéticas muestra que no existen diferencias en el porcentaje de la ingesta calórica en función de la estimada para la edad, sexo y actividad física realizada diaria (112% vs 106%). No se encontraron tampoco diferencias en la ingesta de los diferentes principios inmediatos: hidratos de carbono (47,94% vs 47,02%), lípidos (34,73 vs 36,34%), y proteínas (17,65% vs 16,60%). (Tabla 13).

Tabla 13. Valores medios de aportes de las diferentes dietas			
	Al diagnóstico (DS)	Al año (DS)	Significación
%Calorias(1)	112,60(48,74)	106,92(22,59)	0,92
%HC	47,94(5,25)	47,02(5,88)	0,43
%Lípidos	34,73(6,64)	36,34(5,23)	0,35
%Proteínas	17,65 (4,68)	16,60(2,91)	0,33
%AGMI/ % TL	15,25 (2,01)/44,01(5,81)	17,38(2,36)/47,84(6,52)	0,015
%AGPI/ % TL	5,05(2,44)/14,54(7,03)	5,74 (1,81) /15,80(4,99)	0,46
%AGS/% TL	14,45(2,85)/41,63(8,23)	13,20(1,96)/36,35(5,42)	0,01
Vitamina D (2)	25,35(29,51)	34,46(31,45)	0,32
Fólico (2)	230,03(156,08)	188,07(83,76)	0,362
Vitamina A (2)	152,60(126,85)	146,03(129,70)	0,90
Vitamina B6 (2)	232,96(232,69)	181,53(170,48)	0,316
Vitamina B12 (2)	423,00(265,72)	462,14(250,85)	0,97
Vitamina C (2)	133,35(114,92)	100,89(69,24)	0,12
Vitamina E (2)	81,35(39,29)	96,28(43,28)	0,10
Sodio (2)	155(81,33)	138(65,46)	0,58
Calcio (2)	108,25(42,00)	103,50(30,32)	0,53
Fosforo (3)	248,4 (65,2)	278,3 (58,7)	0,002
Magnesio (2)	153,17(89,35)	128,96(52,75)	0,20
Hierro (2)	174,92(90,81)	144,82(48,42)	0,13
Zinc (2)	70,03(39,51)	61,07(18,28)	0,87
Fibra (g/día) / % RDI	14,16(7,66)/ 56,64(30,64)	12,84(5,52) / 51,36 (22,08)	0,374
DS: desviación estándar			
AGMI: ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; AGS			

ácidos grasos saturados.

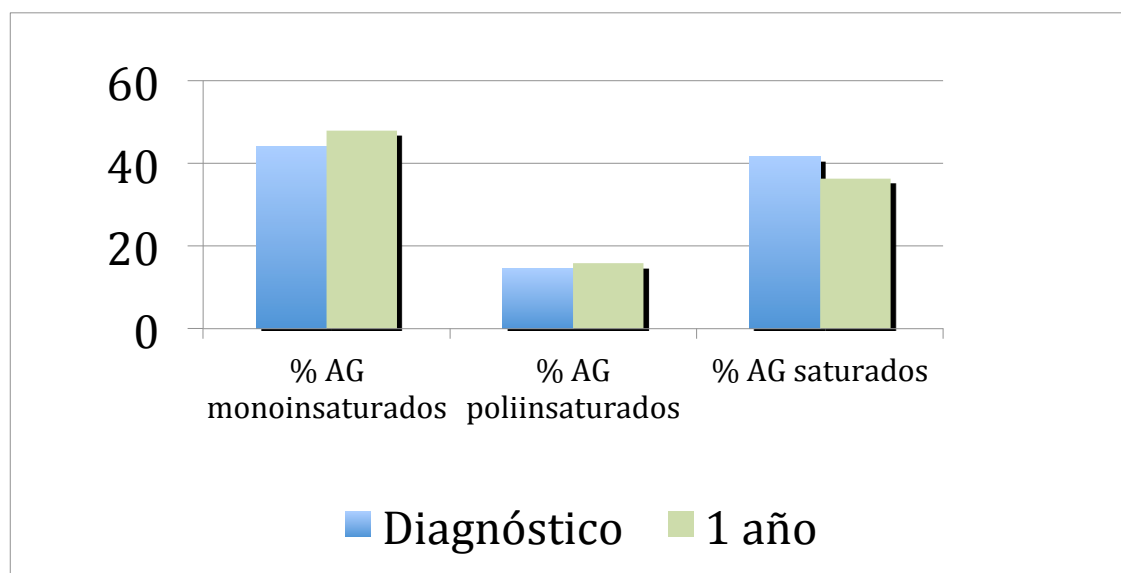
%TL: porcentaje del total de lípidos

(1)% Calorías: hace referencia al porcentaje de la ingesta calórica ingerida, en función de la ingesta calórica estimada para el peso, edad y sexo con una actividad física leve según la fórmula de Schofield para el peso y la talla

(2) Porcentaje de la ingesta en función de las RDI.

(3) Porcentaje de la ingesta en función de la AI (Adecuate Intake)

En el análisis de los diferentes tipos de ácidos grasos si se encontraron diferencias significativas entre las diferentes dietas, con un aumento de la ingesta de ácidos grasos monoinsaturados en la dieta sin gluten (44,01 vs 47,84%,  $p=0'015$ ) y una disminución de los saturados (41,63% vs 36,35%,  $p=0'01$ ). (Ilustración 19).



**Ilustración 19. Aportes de AG en las diferentes dietas**

En relación a las vitaminas, sólo se encontró un aporte deficiente de vitamina D tanto en la dieta con gluten como en la sin gluten, sin que haya cambios significativos en la ingesta en función del tipo de dieta (25,35% vs 34,46%,  $p=0'32$ ). Las cifras de vitamina B6, B12, A, C, E, ácido fólico no mostraron en ningún caso deficiencia ni tampoco diferencia en la ingesta entre las diferentes dietas. (Tabla 13 e ilustración 20).

Entre los iones se encontró un aporte deficiente en el caso del zinc en ambas dietas, sin diferencias entre ambos; mientras que sólo hubo diferencias significativas en la ingesta

de fósforo (99,44% de las AI vs 120,30%, p 0'002), con aportes normales y sin diferencias entre las dieta de sodio, calcio, hierro, magnesio. (Tabla 13 e ilustración 20)

El aporte de fibra tanto en la dieta sin gluten como en la dieta con gluten fue por debajo de lo recomendado para la edad, sin encontrar diferencia entre las dos clases de dietas. (Tabla 13 e ilustración 20).

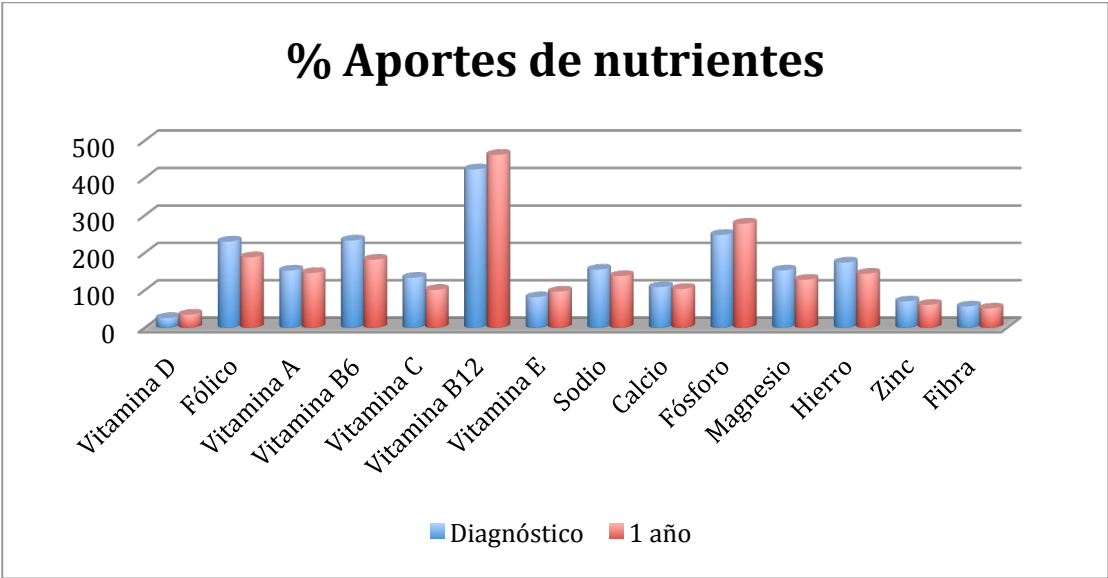
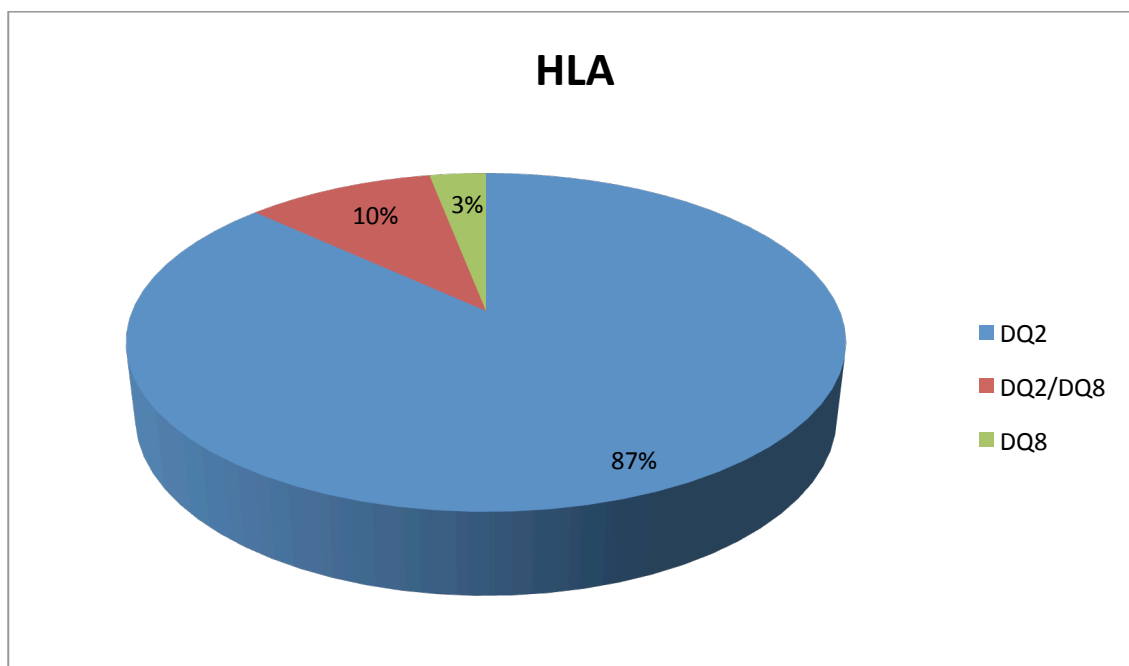


Ilustración 20. Aportes de micronutrientes

5. Valores de laboratorio

En la evaluación analítica en todos los casos existen unos Ac IgA ATG positivos al diagnóstico (valor medio 96,55 UI/ml), negativizándose en todos ellos al año (7,58 UI/ml). En el estudio del HLA un 86% presentan un fenotipo DQ2, un 3% DQ8 y un 10% DQ2/DQ8. (Ilustración 21).



**Ilustración 21. Distribución de HLA**

Lo más llamativo, es la existencia de unas cifras de hemoglobina y ferritina bajas que se recuperan significativamente unido a una mejoría en los valores de ácido fólico. La vitamina B12, ácido fólico, homocisteína, magnesio, calcio, fósforo, se mantienen dentro de parámetros de la normalidad sin existir variación en ellos en el control al año. La vitamina D y la parathormona presentan niveles dentro de la normalidad tanto al debut como al año pero si existe variación estadística en sus cifras: ascenso en el caso de la vitamina D y disminución en el caso de la parathormona. Además se demuestra una relación inversa entre ellas al diagnóstico ( $p=0'14$ ). Otros parámetros relacionados a priori con la formación y remodelado óseo como la fosfatasa alcalina ósea, el propéptido procógeno 1, los productos de degradación del colágeno I, el calcio y el fósforo en orina no presentan variaciones estadísticas. (Tabla 14)

Tabla 14. Parámetros analíticos			
	Al diagnóstico (DS)	Al año (DS)	Significación
IgA ATG (UI/ml)	96,55 (37,73)	7,58 (12,83)	$p<0'001$
Ferritina (mcg/l)	17,12(14,53)	40,75(32,32)	$p<0'001$
Hemoglobina (mg/dl)	12,02 (1,29)	12,93 (0'88)	$p<0'001$

Vitamina B12 (pg/ml)	632,25(231,44)	725,91(340,99)	p=0'084
Vitamina D (nmol/ml)	76,81 (20,23)	87,06 (26,36)	p=0'039
PTH (pg/ml)	35,71 (14,74)	27,79 (13,30)	p=0'004
Magnesio (mg/dl)	2,08 (0,17)	2,01 (0,31)	P=0,487
Producto de degradación del colágeno 1 (pg/ml)	1128,68 (475,06)	1152,09 (441,43)	p=0'76
Propéptidoprocolágeno 1 (ng/ml)	600,46 (169,43)	643,53 (190,66)	p=0'44
Calcio en orina	5,06(4,96)	6,85(5,60)	P=0,13
Fósforo en orina (mg/dl)	77,37 (47,69)	85,08 (55,67)	p=0,75
Fosfatasa alcalina ósea (U/l)	122,22 (20,06)	117,26 (30,35)	p=0,421
Acido fólico (ng/ml)	10,66(5,90)	14,24(4,59)	P=0,004
Homocisteína (mcmol/l)	8,34(3,54)	7,49(2,78)	0,198
Calcio (mg/dl)	9'77 (0'47)	9'97 (0'20)	0,142
Fósforo (mg/dl)	5,17 (0'50)	5,08 (0'60)	0,472

## 6. Histología

Del total de niños diagnosticados, un 38,8% precisaron biopsia para el diagnóstico. En todos ellos se encontró un estadio de Marsh de 3, con una distribución reflejada en la gráfica.(ilustración 22).



**Ilustración 22. Distribución estadíos de Marsh**

## 7. Densitometría.

El estudio de los resultados obtenidos en la diferentes densitometrías refleja una afectación de la osificación de los pacientes celiacos con unas cifras de DMO, CMO y z score por debajo de la media que se recuperan significativamente pero sin llegar a estar por encima de la media tras un año de dieta sin gluten. (Tabla 14). Se buscó relación entre diferentes factores (edad, sexo, parámetros antropométricos, cifras de PTH, vitamina D, FAO, IgA ATG, telopéptido carboxiterminal, PINP, Calcio en orina, existencia de síntomas al diagnóstico, tiempo hasta el diagnóstico, estadio de Marsh, % de ingesta calórica, ingestión de calcio, fósforo, proteínas y vitamina D) y la densidad mineral ósea –tanto en valores absolutos, como en z score- al diagnóstico y al año de seguimiento con la dieta sin gluten ya instaurada. Se encontró una relación positiva entre el z score de la DMO y la edad, peso, talla, IMC, perímetro braquial y la ingestión de vitamina D al diagnóstico de la enfermedad. En relación con la DMO se encontró relación estadísticamente significativa con el peso, talla, IMC, pliegue tricipital, los pacientes sintomáticos, ingestión de vitamina D, y una relación inversa con el % de ingesta calórica y la ingesta de calcio. (Tabla 15-18)(Ilustraciones 23-42).

Tabla 15. Valores de significación de las relaciones entre z score y diferentes parámetros

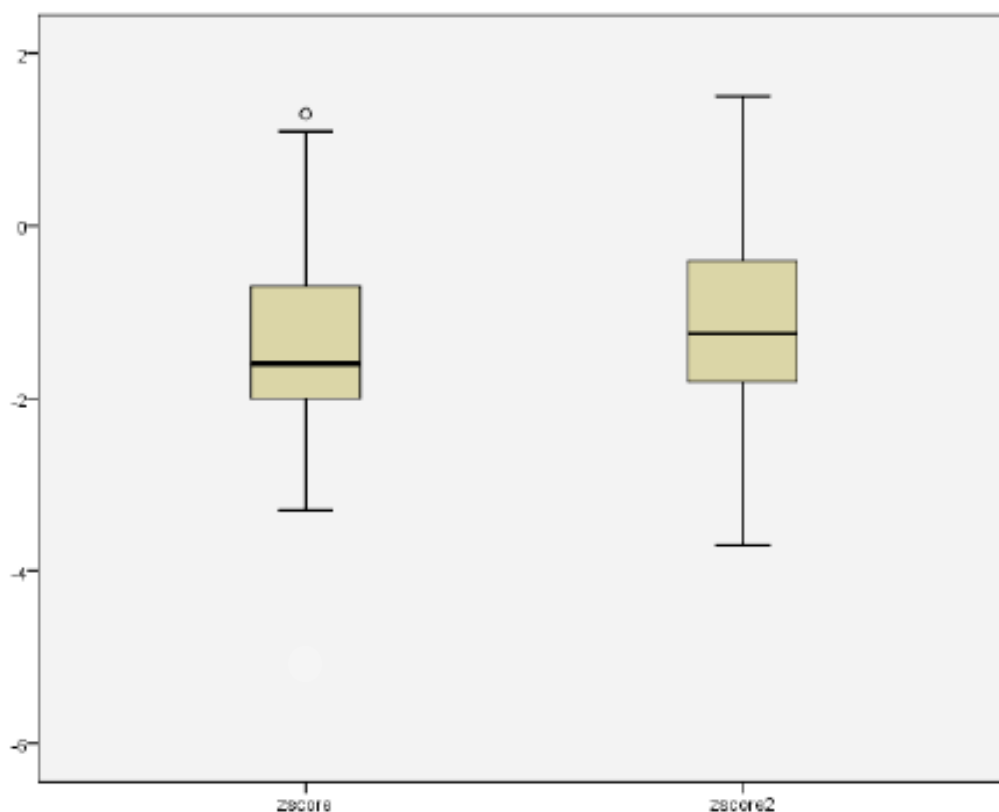


	Al diagnóstico	Al año
Marsh	0'36	
Tiempo hasta el diagnóstico	$r=0'143$ ; $p=0'265$	
Síntomas	0'483	
Cifras de IgA ATG	$r=-0'235$ ; $p=0'06$	
Cifras de PTH	$r=0'129$ ; $p=0'35$	$r=0'032$ ; $p=0'84$
Niveles plasmáticos de vitamina D	$r=0'249$ ; $p=0'96$	$r=0'006$ ; $p=0'97$
Niveles plasmáticos de FAO	$r=0'140$ ; $p=0'39$	$r=-0'071$ ; $p=0'72$
Propéptido-procolágeno	$r=0,154$ ; $p=0,285$	$r=-0'062$ ; $p=0'727$
Telopéptido-C-terminal colágeno I	$r=0'154$ ; $0,285$	$r=0'081$ ; $p=0'632$
Calcio orina	$r=-0'123$ ; $p=0,123$	$r=-0'098$ ; $p=0'982$
Edad	$r=0'302$ ; $p=0,014$	
Sexo	$p=0'189$	
DE peso	$r=0'552$ ; $p<0,001$	$r=0'348$ ; $0'024$
DE talla	$r=0'471$ ; $p<0,001$	$r=0'426$ ; $0'005$
DE IMC	$r=0'391$ ; $0,002$	$r=0'186$ ; $p=0'238$
DE p braquial	$r=0'298$ ; $0,022$	$r=0'303$ ; $p=0'087$
DE p tricipital	$r=0'214$ ; $p=0,104$	$r=0'127$ ; $p=0'481$
% ingesta calórica	$r=-0'275$ ; $p=0'07$	$r=-0'208$ ; $p=0'23$
Ingestión de proteínas	$r=-0'057$ ; $p=0'169$	$r=-0'045$ ; $p=0'178$
Ingestión de calcio	$r=-0'235$ ; $p=0'116$	$r=-0'187$ ; $p=0'289$
Ingestión de vitamina D	$r=0'353$ ; $0,02$	$r=-0'230$ ; $p=0,19$
Ingestión de fósforo	$r=0'038$ ; $p=0'960$	$r=0'023$ ; $p=0'567$

**Tabla 16.** Valores de significación de las relaciones entre DMO y diferentes parámetros

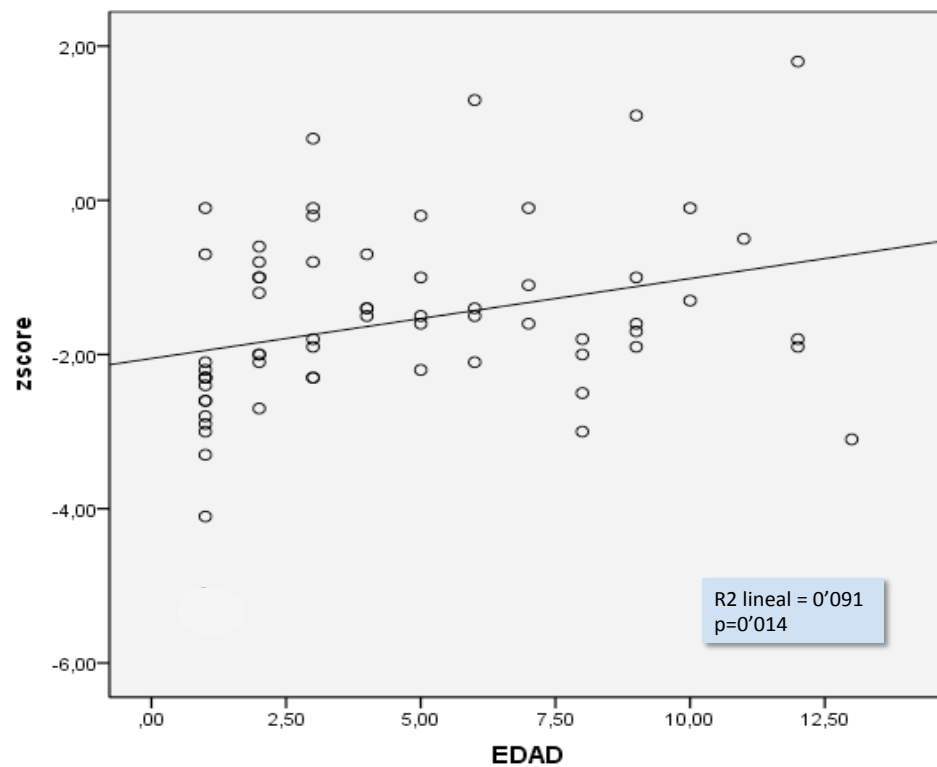
	Al diagnóstico	Al año
Marsh	0'284	
Tiempo hasta el diagnóstico	$r=0'059$ ; $p=0'644$	
Síntomas	$0'010$	
Cifras de IgA ATG	$r=-0'029$ ; $p=0'821$	
Cifras de PTH	$r=0'0367$ ; $p=0'079$	$r=0'256$ ; $p=0'111$

Niveles plasmáticos de vitamina D	$r=0'049$ ; $p=0'746$	$r=-0'063$ ; $p=0'706$
Niveles plasmáticos de FAO	$r=0'247$ ; $p=0'125$	$r=-0'053$ ; $p=0'789$
Propéptido-procolágeno	$r=0'016$ ; $p=0,925$	$r=0'077$ ; $p=0'691$
Telopéptido-C-terminal colágeno I	$r=0'144$ ; $p=0'374$	$r=0'098$ ; $p=0'230$
Calcio orina	$r=-0'812$ ; $p=0'112$	$r=-0'123$ ; $p=0'245$
Edad	$r=0'841$ ; $p=0'000$	
Sexo	$0'103$	
DE peso	$r=0'380$ ; $p=0'002$	$r=0'120$ ; $p=0'448$
DE talla	$r=0'299$ ; $p=0'017$	$r=0'534$ ; $p=0'534$
DE IMC	$r=0'214$ ; $p=0'093$	$r=0'169$ ; $p=0'285$
DE p braquial	$r=0'164$ ; $p=0'214$	$r=-0'130$ ; $p=0'472$
DE p tricipital	$r=0'341$ ; $p=0'008$	$r=-0'076$ ; $0'675$
% ingesta calórica	$r=-0'659$ ; $p=0'000$	$r=-0'312$ ; $p=0'072$
Ingestión de proteínas	$r=-0'057$ ; $p=0'709$	$r=0'066$ ; $p=0'712$
ingestión de calcio	$r=-0'459$ ; $p=0'001$	$r=-0'396$ ; $p=0'02$
ingestión de vitamina D	$r=0'367$ ; $p=0'012$	$r=0'013$ ; $p=0'943$
Ingestión de fósforo	$r=0'024$ ; $p=0'877$	$r=0'258$ ; $p=0'141$

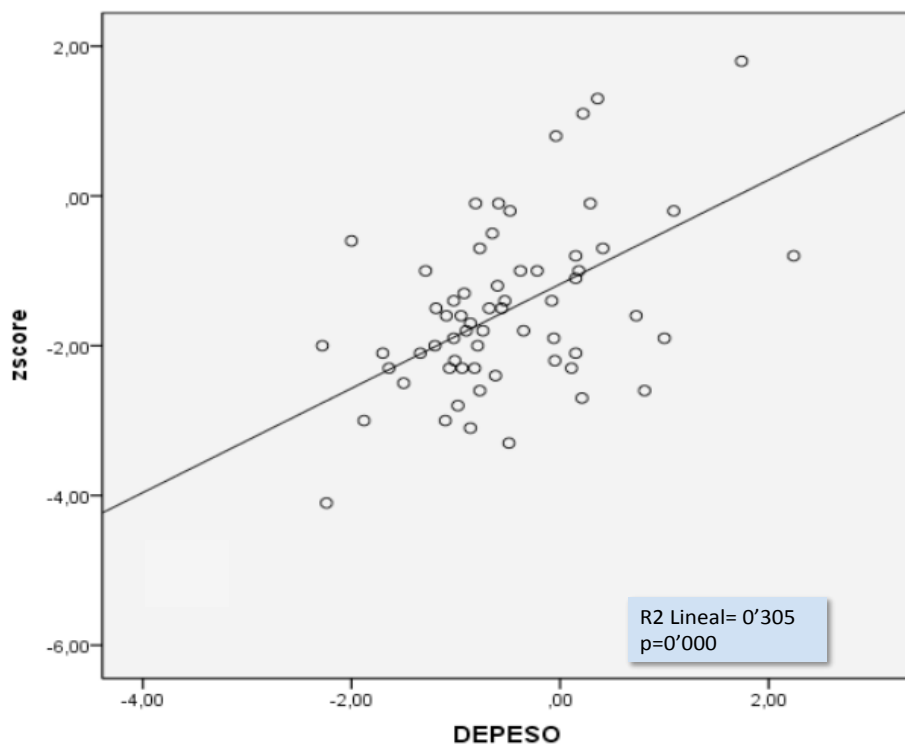


**Ilustración 23. Representación variación z-score DMO.**

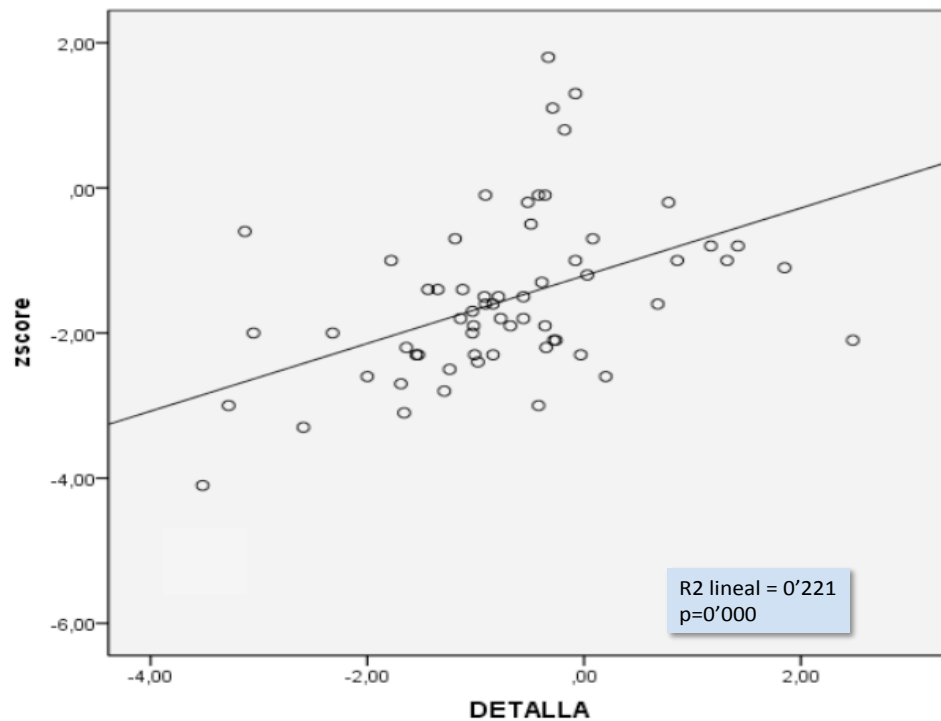
Tabla 17. Valores estadísticos variación z score DMO						
Muestras relacionadas						
	Media	Desviación típica	Error típico de la media	IC 95%		Significación
				inferior	superior	
Z score DMO – Z score DMO2	-0'354	0'493	0'076	-0'509	-0'200	0'000



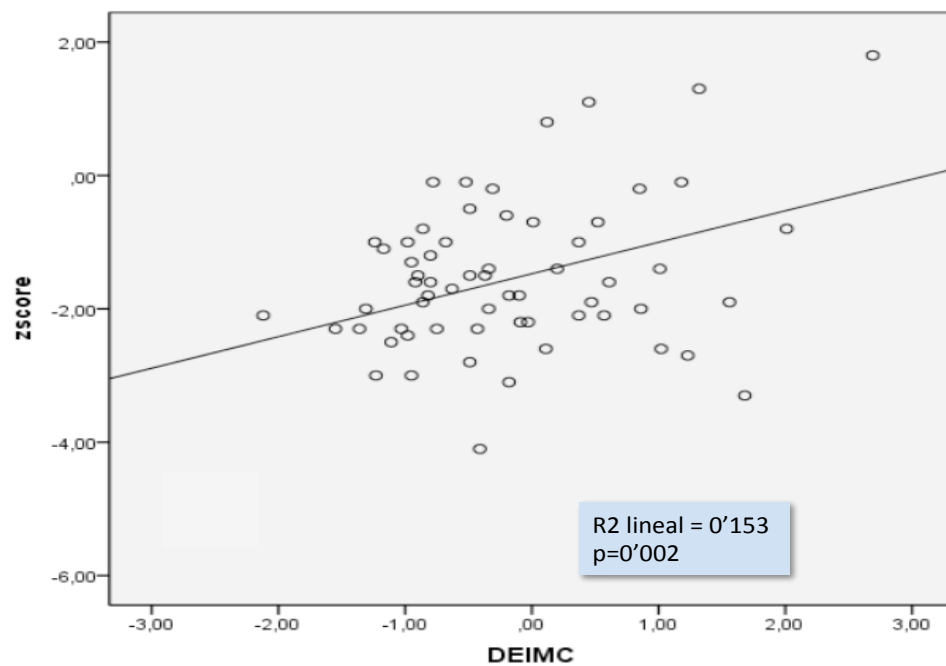
**Ilustración 24. Representación relación z score DMO al diagnóstico- edad.**



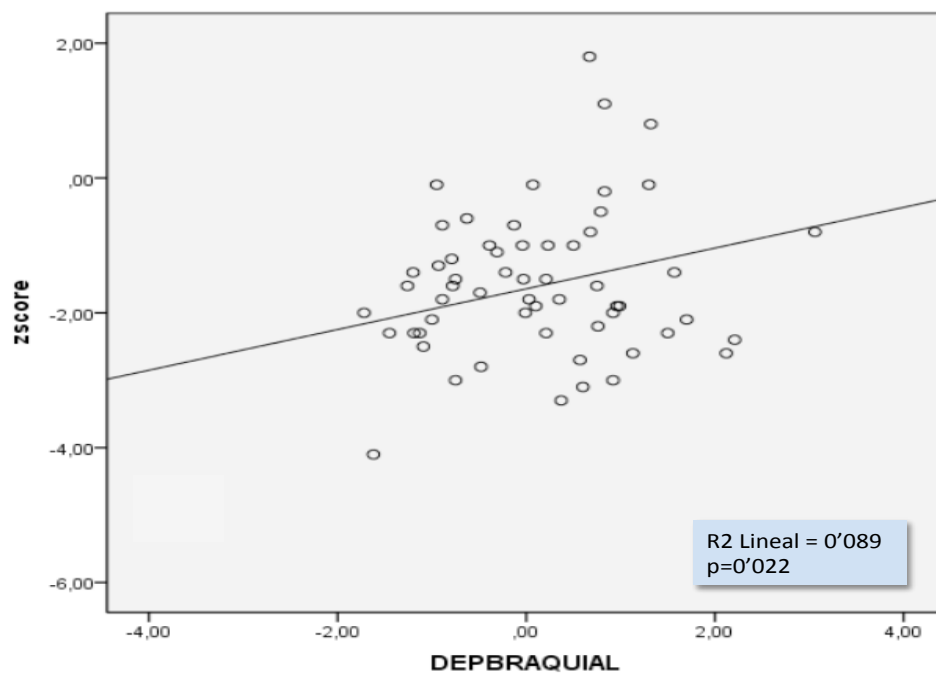
**Ilustración 25. Representación relación z score DMO - DE peso al diagnóstico.**



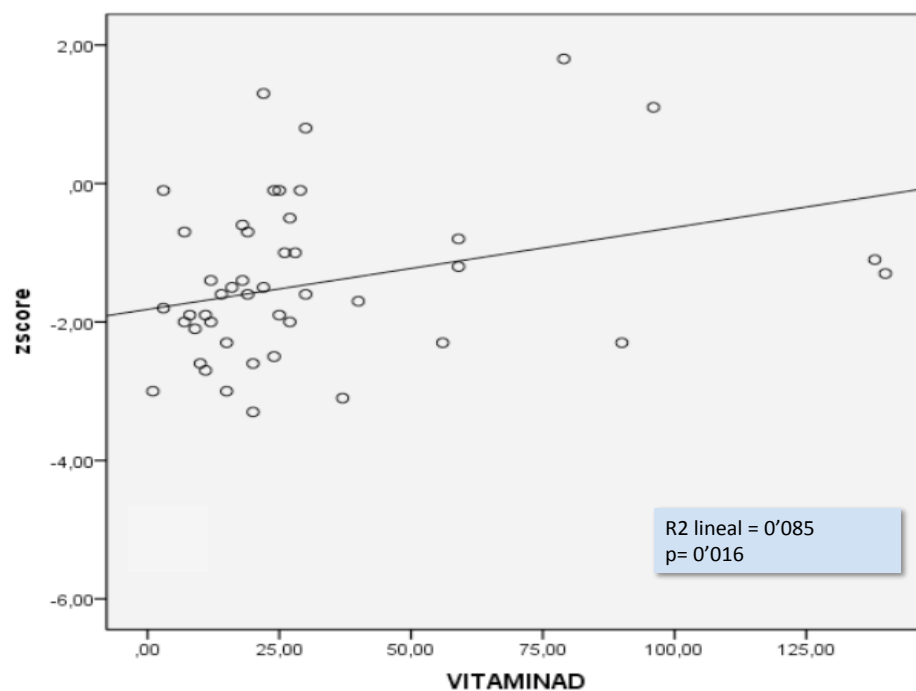
**Ilustración 26. Representación relación DE talla - z score DMO al diagnóstico.**



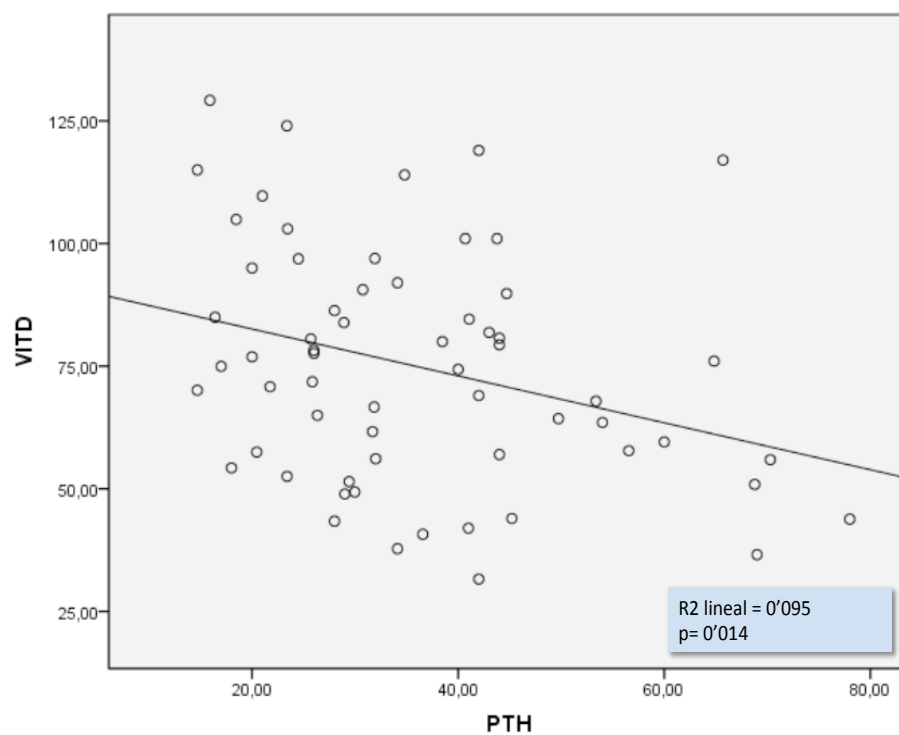
**Ilustración 27. Representación relación IMC - z score DMO al diagnóstico**



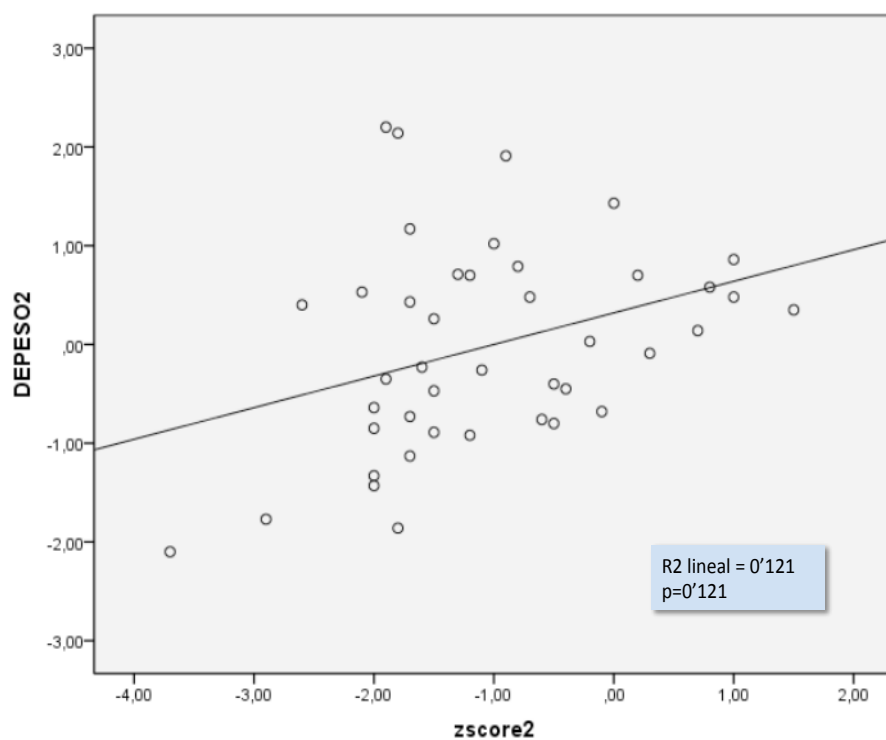
**Ilustración 28. Representación DE perímetro braquial - z score DMO al diagnóstico.**



**Ilustración 29. Representación relación ingesta vitamina D al diagnóstico - z score DMO**

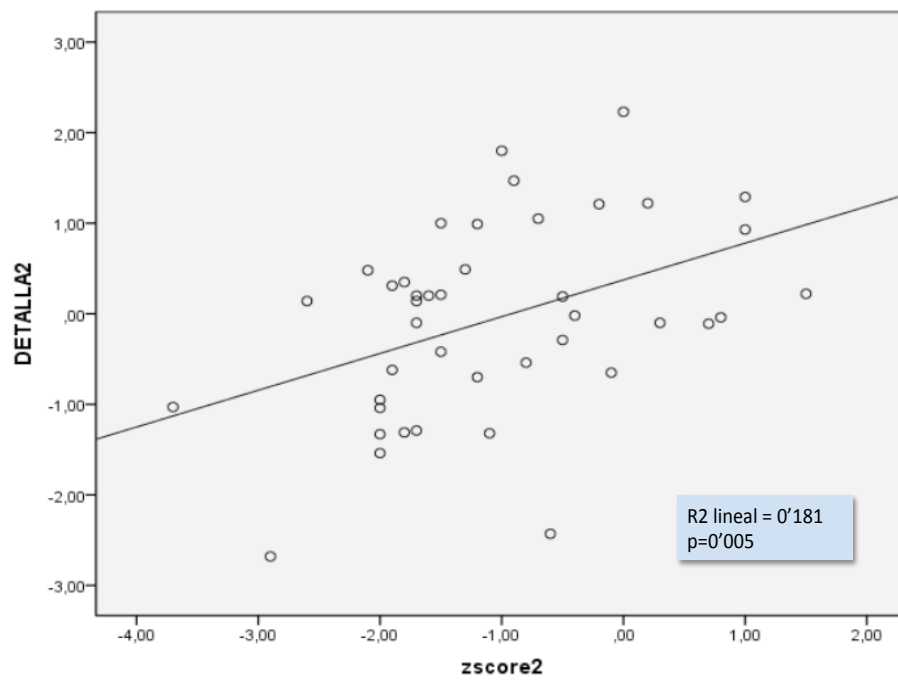


**Ilustración 30. Relación PTH y vitamina D plasmática al diagnóstico.**

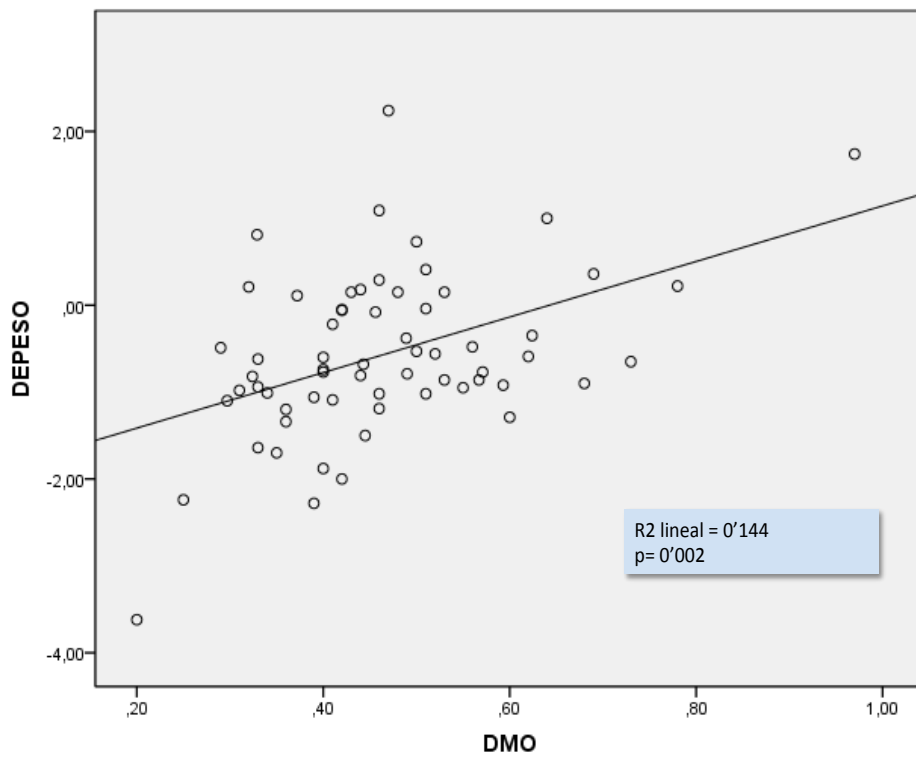


**Ilustración 31. Relación z-score DE peso al año.**

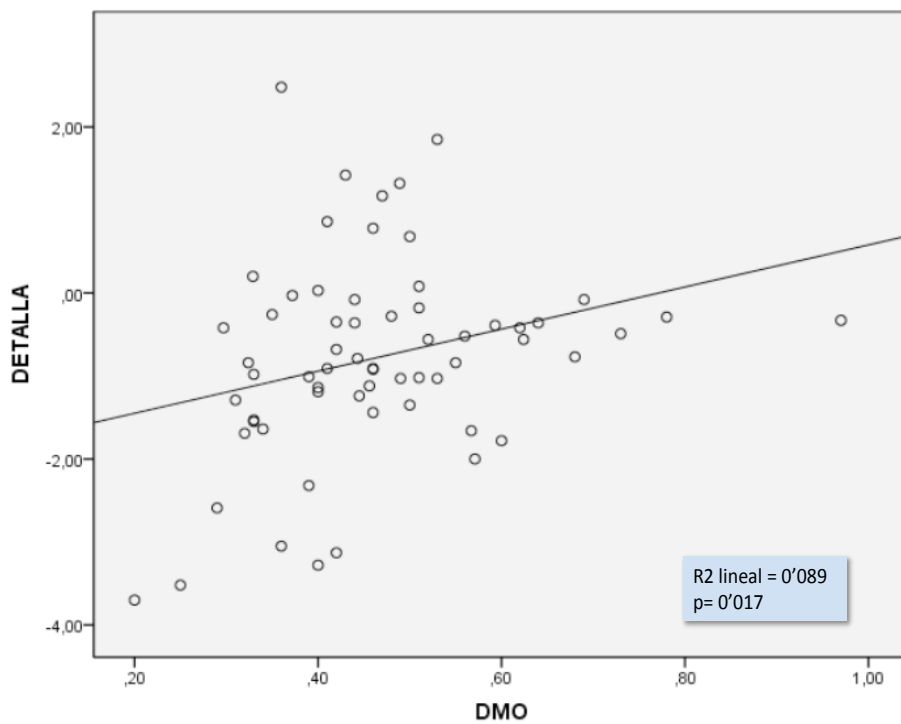




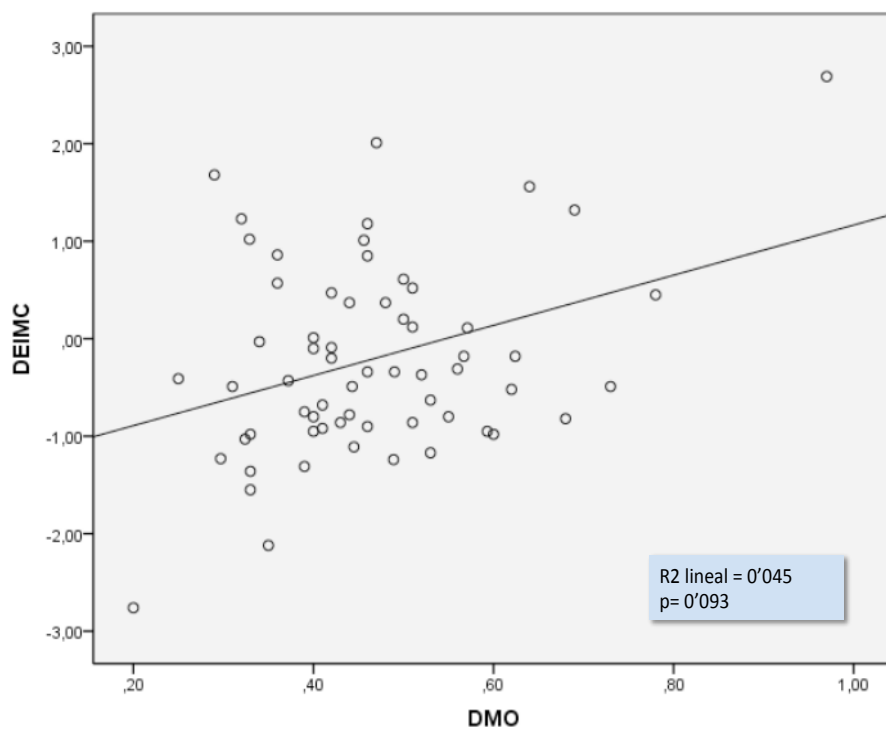
**Ilustración 32. Relación DE talla y z-score DMO al año.**



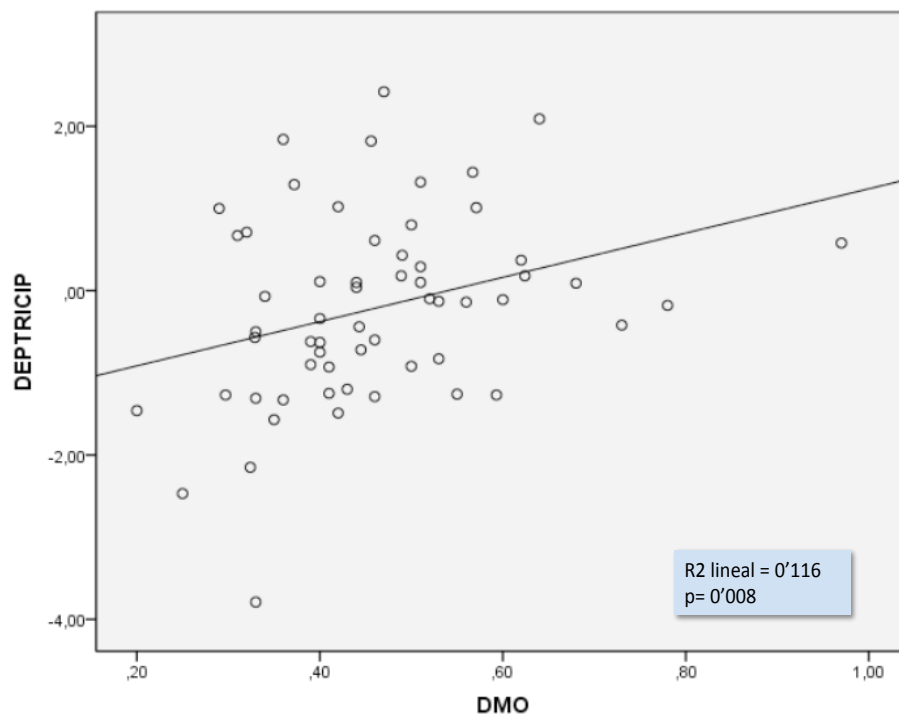
**Ilustración 33. Relación DMO y DE peso al diagnóstico.**



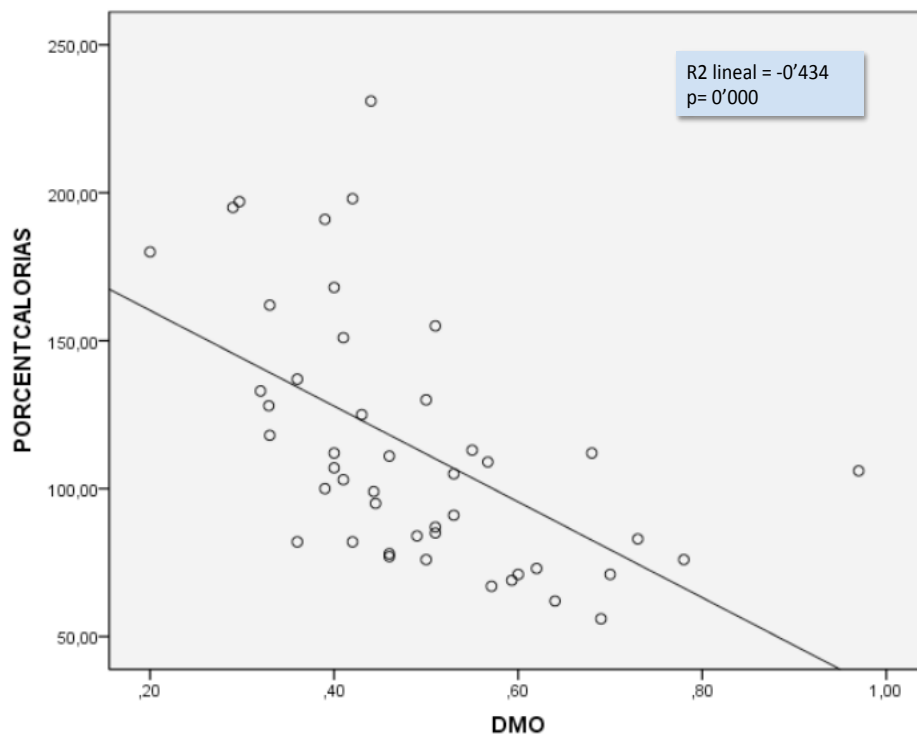
**Ilustración 34. Relación DE Talla y DMO al diagnóstico.**



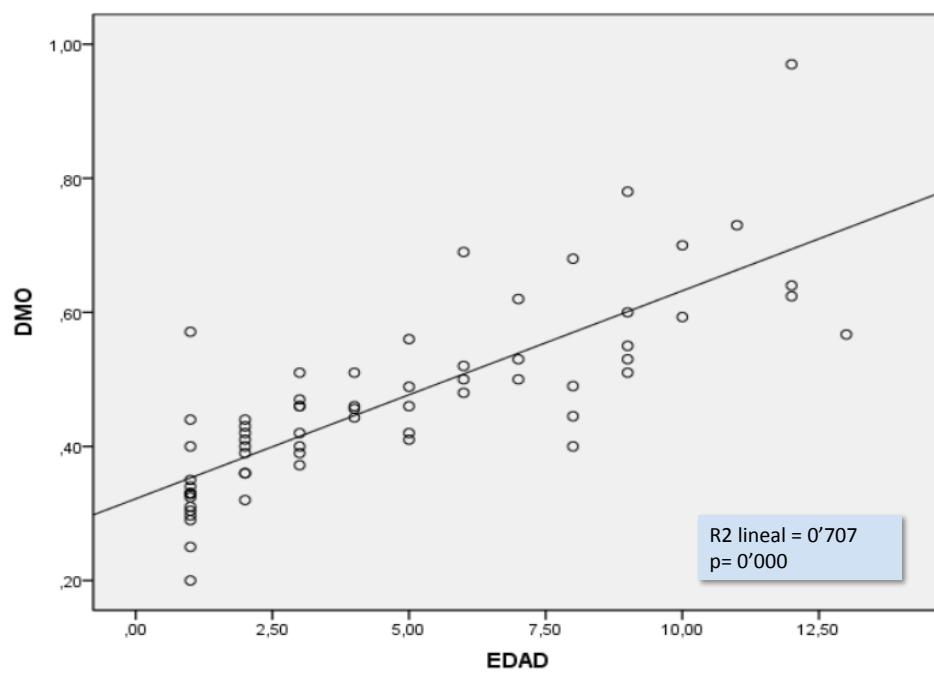
**Ilustración 35. Relación IMC y DMO al diagnóstico.**



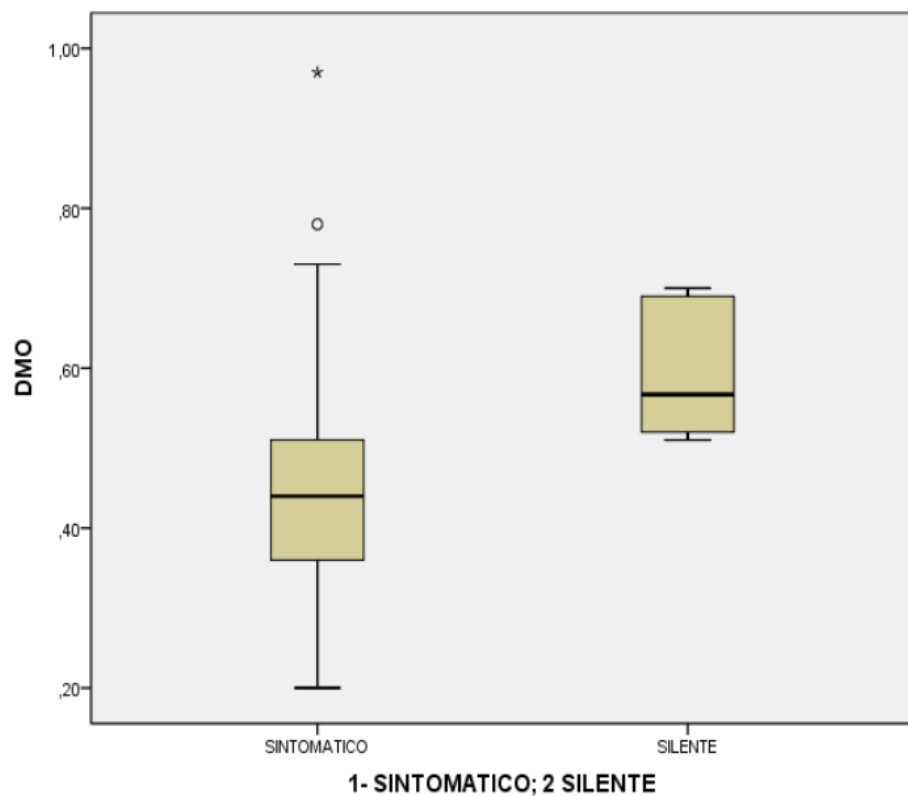
**Ilustración 36. Relación DMO y DE Pliegue tricipital al diagnóstico.**



**Ilustración 37. Relación entre DMO y % ingesta calórica al diagnóstico.**

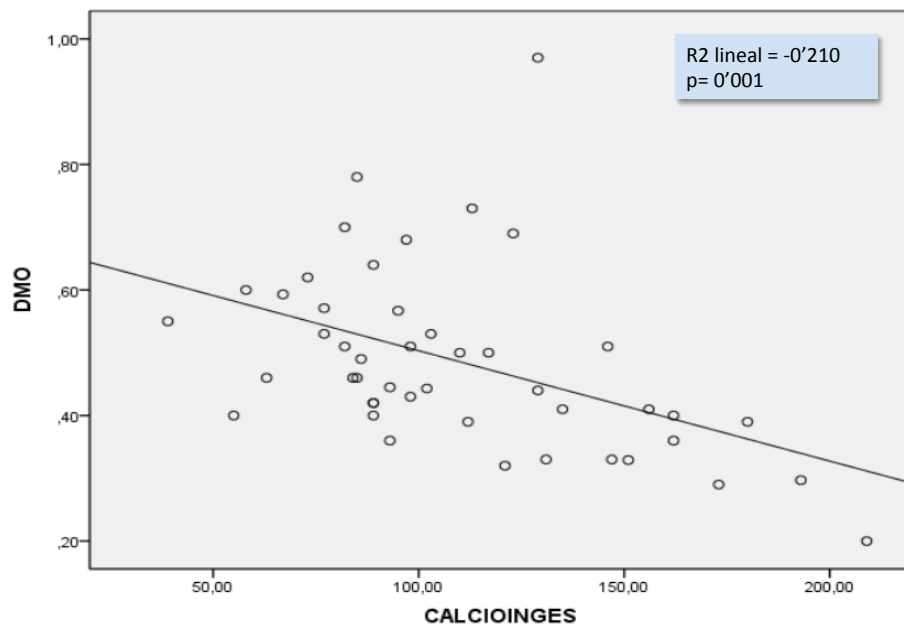


**Ilustración 38. Relación entre DMO y edad.**

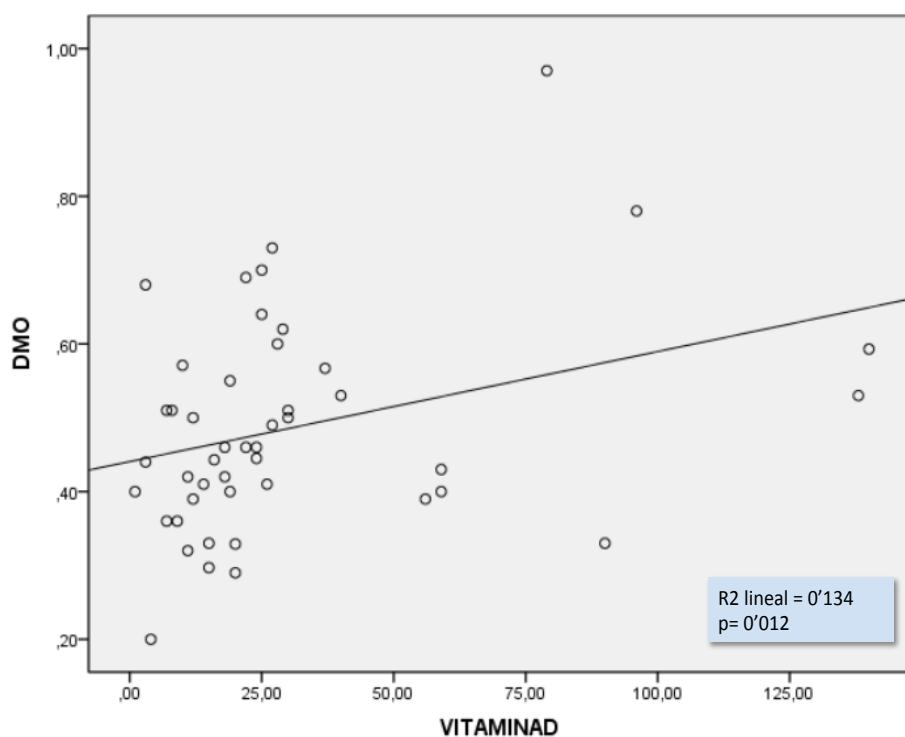


**Ilustración 39. Diferencias DMO entre pacientes sintomáticos y silentes.**

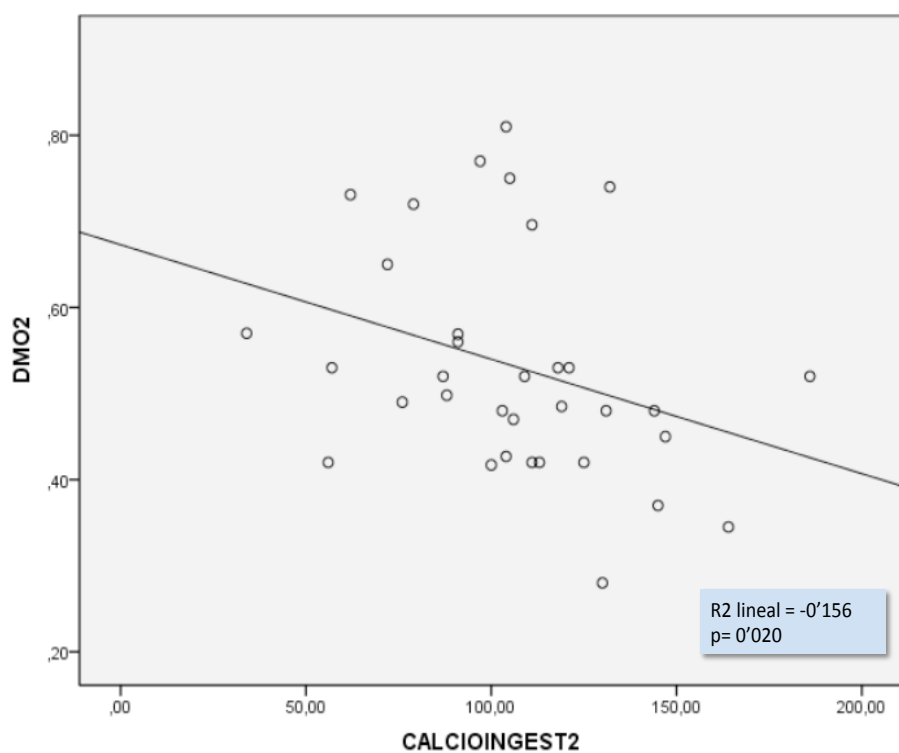
Tabla 18. Estadísticos de contraste. Diferencias en DMO entre pacientes sintomáticos y silentes	
U de Mann-Whitney	45,000
W de Wilcoxon	1875,000
Z	-2,586
Significación	0,010



**Ilustración 40. Relación entre DMO e ingestión de calcio al diagnóstico.**



**Ilustración 41. Relación DMO e ingestión de vitamina D al diagnóstico.**



**Ilustración 42. Relación valores de calcio plasmáticos y DMO al año.**

## VI. DISCUSION

En el presente estudio encontramos una muestra pacientes celiacos, que creemos reflejan de manera adecuada el estado del diagnóstico de la enfermedad celiaca en nuestro país. En lo referente a la distribución por sexos y la clínica de presentación podemos considerar que es una muestra típica de pacientes de reciente diagnóstico en la edad pediátrica, con datos similares a los aportados por el estudio REPAC (3, 7, 136). Uno de los parámetros que posiblemente se vean alterados es el porcentaje de pacientes asintomáticos incluidos (7,14%). Esto se debe a que una parte de estos celiacos silentes son diagnosticados por cribado de la enfermedad al padecer otras enfermedades como DM, patología tiroidea, etc. Estos pacientes han sido excluidos de nuestro trabajo al ser un criterio de exclusión el padecer otras patologías lo cual favorece el aumento de los pacientes que presentan síntomas. La edad media al diagnóstico es relativamente baja, existiendo pocos pacientes en edad puberal (la edad máxima es de 11 años, en 4 pacientes).

### 1. DMO al diagnóstico.

El análisis de los datos recogidos a través de las densitometrías muestra que tanto el z score como la DMO y la CMO de los pacientes celiacos si bien, se encuentran dentro de rangos de normalidad, sus valores son inferiores a los obtenidos como media en sujetos sanos. (Tabla 12) Datos de afectación de la DMO en pacientes celiacos los encontramos en distintas series (29, 31, 33, 38, 42, 127, 137). El problema de estos trabajos es la disparidad en el tipo de estudio así como de los datos aportados (DMO, CMO o z score). De los más destacados es el de Kavak et al. que encuentra una diferencia en la DMO entre los pacientes recién diagnosticados frente a controles sanos ( $0'447 \pm 0'144$  vs  $0'537 \pm 0'080$   $p= 0'006$ ). Datos similares se encuentran en otros estudios (Tabla 19). En comparación con estas publicaciones hay que comentar que nuestros datos entran dentro de las series que muestran una mayor afectación ósea tanto en valores de DMO como de z score, lo que reafirma nuestro supuesto de la “afectación” de la densidad mineral ósea de estos pacientes.

En el estudio de nuestros datos encontramos que el porcentaje de pacientes al diagnóstico con osteopenia (z score  $<-1$ ) es de 59,9% y el de pacientes con una



osteopenia grave (z score  $<-2,5$ ) del 11,6%. Datos cercanos a los publicados (32,3-62,5% y 20-37,5% respectivamente)(29, 39, 137, 138). Actualmente el concepto reconocido es el de *baja densidad ósea*, establecido como un z-score  $<-2$ . La frecuencia encontrada en nuestros pacientes es del 40% al diagnóstico y del 18,2% al año, diferencia sin relevancia significativa. Estudios similares en la edad pediátrica no existen. En adultos McFarlane demostró que un 20% de pacientes presentaban con un z score  $<-2$  (139).

No se encontró ninguna relación con factores que podrían ser indicadores de una mayor afectación de la enfermedad celiaca como son la cifra de Ac IgA ATG y el estadio de Marsh. En este aspecto hay estudios que si muestran una mayor afectación ósea (40, 147, 148) a un mayor estadio de Marsh o unas cifras de IgA ATG más elevadas, frente a otros que, al igual que en nuestro caso, no se logra encontrar relación (46, 47, 126). En relación con el riesgo de fractura ocurre de forma similar, existen estudios con resultados contradictorios. En general los que establecen un mayor riesgo de fractura son realizados en adultos (OR 2.8-9,8; 95% IC)(149), no existiendo datos que establezcan esta relación en la edad pediátrica (47, 128, 147).

En relación a la edad, se conoce que en condiciones normales la DMO va mejorando con la edad. En nuestra opinión, en el caso de pacientes celiacos para estudiar esta valoración hay que tener presente que otros factores como el tiempo de evolución de la enfermedad y los síntomas pueden interferir en su evaluación. En nuestra serie encontramos una relación positiva: a mayor edad los pacientes presentaban tanto un z score como una DMO mayor en comparación a los niños más pequeños. En la interpretación de estos resultados hay que tener en cuenta que la edad a partir de la cual se encuentra una relación directa entre la edad y una peor DMO en pacientes celiacos es a partir de los 10 años, lo que implica la posibilidad de un mayor tiempo de evolución de la enfermedad. En nuestro caso, la media de edad de nuestra serie (4,8 años) favorece los datos obtenidos. Cuando se revisa la bibliografía en la población celiaca nos encontramos con datos discordantes. Así existen autores que encuentran relación entre la edad y la afectación ósea(30, 138), mientras que otras muestran una relación positiva entre la edad y una mejor DMO (29, 33, 39, 42). Al igual que con la edad, la existencia de una relación directa entre el retraso en el diagnóstico y una mayor afectación en la DMO no se ha podido demostrar en diferentes series (30, 42, 127), no existiendo tampoco relación en este aspecto en la nuestra. A pesar de ello consideramos que estos datos hay que tomarlos con precaución debido a la dificultad para establecer con

precisión el tiempo de inicio de los síntomas ya que en la mayoría de los casos son subjetivos, al ser referidos por la familia de manera retrospectiva.

Otro aspecto analizado clásicamente es la posible diferencia de afectación que podría existir entre pacientes sintomáticos y asintomáticos, al ser estos últimos diagnosticados en principio más tardíamente. El análisis de este factor ofrece igualmente datos contradictorios en la literatura ya que la mayoría de las publicaciones no han demostrado que los pacientes que debutan de manera sintomática o con algún síntoma en particular presenten peores datos de densitometría(29, 47, 49, 126). Kalayci aporta datos que apoyan que la recuperación es más lenta en los no sintomáticos, lo que justifica con la teoría de que al no haber existido clínica, el tiempo hasta el diagnóstico ha sido mayor permitiendo que hayan desarrollado mayores alteraciones a nivel del metabolismo óseo(29). En nuestro estudio si que se demuestra una mayor afectación ósea en términos absolutos de DMO entre los sintomáticos comparados con los asintomáticos, lo que unido a la falta de relación con el tiempo de evolución nos hace pensar que probablemente haya algún o algunos factores que hacen que las diferentes manifestaciones clínicas (ya sean óseas o de otro tipo) se manifiesten de forma independiente del tiempo de evolución de la enfermedad.

En el análisis de la repercusión de la DMO en relación al sexo no encontramos diferencias. Este hecho está acorde con lo descrito ya que salvo el aumento de la DMO anterior en la niñas relacionado con el desarrollo puberal, no se ha demostrado que haya diferencias entre sexos cuando están afectos por enfermedad celiaca. (42, 127)

La búsqueda de relación entre parámetros antropométricos y la densitometría al diagnóstico aportó una relación positiva entre el peso, la talla, el IMC y el perímetro braquial y el z score, y entre la DMO y el peso, talla, IMC y pliegue tricipital. Relaciones positivas con la talla, peso e IMC (33, 34, 38, 42, 43) ya han sido descritas y son normales ya que hasta la adolescencia se ha descrito la relación directa entre la DMO y el peso y la talla.

Tabla 19. Estudios publicados con datos que relacionan celiarquía y afectación de la DMO.

Autor	Tipo de estudio	n	DMO (g/cm <sup>2</sup> )	CMO (g/cm)	Z score	Observaciones
Sdepanian et al.	Casos controles transversal	30	0'91 +/-0'11			Pediátrico
Szathmari et al.	Transversal. Casos	91	1.01 +/- 1,58			Mediciones en radio. Pediátrico
Lewis et al.	Transversal. Casos	43			-0'26	Adultos
Kavak et al.	Transversal. Casos- controles	28	0'447 +/- 0'14	14,80 +/- 9'69		Pediátrico
Jatla et al.	Retrospectivo Casos.	44			-0'6 +/- 1,3	Pediátrico
Turner et al.	Retrospectivo. Casos	74			-1,4 +/- 1,2	Pediátrico

## 2. DMO tras dieta sin gluten.

En nuestra población de estudio constatamos que se produce una recuperación de la DMO significativamente tras un año de seguimiento de la dieta sin gluten. (Tabla 12). Existen pocos estudios publicados que muestren un seguimiento prospectivo de los pacientes como en nuestro caso. En adultos de los más recientes es el de Pantaleoni et al, que demuestra una mejoría significativa en pacientes adultos en los valores de T-

score(140). En edad pediátrica, Margoni et al encontró en dos grupos de pacientes (uno recién diagnosticado y otro con 2 años de dieta sin gluten) un z score de  $-1,12 \pm 1,54$  y una DMO de  $0,63 \pm 0,20$  en el grupo recién diagnosticado por un z score de  $-0,58 \pm 0,80$  y una DMO de  $0,67 \pm 0,17$  en el grupo de pacientes que estaban realizando la dieta sin gluten, siendo la diferencia entre cada uno de los respectivos valores significativa. Por otro lado estudian, como en nuestro trabajo de manera prospectiva, a un grupo de 16 pacientes durante 12 meses, encontrando como nosotros una mejoría significativa tanto del z score ( $-1,45 \pm 0,28$ ) a  $-0,61 \pm 0,25$ ,  $p=0,004$ ) como de la DMO ( $0,59 \pm 0,19$  a  $0,75 \pm 0,21$ ,  $p<0,001$ )(30). Kalayci, Heyman, Tau y Mager aportan datos de estudios prospectivos con resultados similares (Tabla 20)(29, 39, 43, 138).

Tabla 20. Estudios de mineralización ósea prospectivos en pacientes celíacos.

Autor	Tipo de estudio	n	Z-score al diagnóstico	Z-score al año	Significación
Mager et al	Prospectivo descriptivo	52	$-0,37 \pm 1,10$	$-0,34 \pm 1,06$	$p<0,05$
Kalayci et al	Cohortes prospectivo	32	$-1,55 \pm 1,36$	$-0,38 \pm 1,19$	$p=0,028$
Margoni et al	Prospectivo descriptivo	36	$-1,45 \pm 0,28$	$-0,61 \pm 0,25$	$p=0,004$
Heyman et al	Prospectivo descriptivo	44	$-1,1 \pm 0,8$	$-0,5 \pm 0,8$	$p<0,05$
Tau et al	Prospectivo descriptivo	24	$-1,36 \pm 1,20$	$-0,23 \pm 1,17$	$p<0,001$

El tiempo que se necesita para recuperar la densidad ósea adecuada es otra de las dudas existentes, ya que como se demuestra en nuestros datos y en los estudios prospectivos comentados anteriormente, se ve que un año de dieta sin gluten estricta provoca una

mejoría en la densitometría pero no logra que los valores obtenidos estén en la media o por encima de la media de la población de referencia. En este aspecto diferentes investigaciones indican que el tiempo necesario debe ser superior a los dos años llegando a establecer Valdimarsson una duración de 4 años.(40, 141, 142) Con todo, esta recuperación está bastante influenciada por la edad y el tiempo transcurrido de enfermedad hasta el diagnóstico del paciente, siendo incluso imposible la restitución total en los adultos, una vez superado el pico de mineralización ósea.(29, 30, 141, 142) En el caso de los niños, el diagnóstico y la instauración de la dieta sin gluten antes del desarrollo de la pubertad favorece la recuperación y normalización de la DMO, la cual suele ser más precoz a menor es la edad del niño, existiendo series que defienden que esta restitución es mayor si el diagnóstico se hace antes de los dos años y que no se alcanza hasta transcurridos 2 años de dieta sin gluten(143). Aún así hay series como la de Kalayci et al, que muestran una prevalencia de osteopenia del 37% (z score <-1) a los 40 meses de dieta sin gluten(29, 30, 33, 42-44)

### 3. Dieta

Desde el punto de vista dietético se ha pretendido por un lado ver si existe alguna variación en la dieta que pueda afectar a la densidad mineral ósea y secundariamente ver si existe algún cambio en la ingesta de macro y micronutrientes al iniciar la dieta sin gluten con respecto a la dieta que realizaba el niño previamente al diagnóstico. Dentro de este campo se ha encontrado que el aporte calórico y de los principales principios inmediatos no cambia con la retirada del gluten. En las series publicadas en las que se analiza una dieta sin gluten en general se encuentra que ésta es normocalórica-hipercalórica con un aporte elevado de proteínas y grasas(25, 138, 139, 144-147), aunque hay series que muestran un aporte insuficiente(44). En nuestro estudio comprobamos que es una dieta normocalórica, sin existir un mayor aporte de energía que cuando se realizaba la dieta con gluten, con una proporción elevada de proteínas y grasas y levemente disminuida en hidratos de carbono. Clásicamente se ha defendido que el inicio de una dieta sin gluten conllevaba un incremento en el aporte de grasas al disminuir la ingesta de hidratos de carbono debido a la restricción en la ingesta de los cereales con gluten (25, 144). En nuestro caso esto no ocurre, pudiendo deberse a la existencia de más productos sin gluten para los enfermos celíacos entre los que se encuentran pan y cereales con precio y sabor más asequibles lo que condiciona que este tipo de pacientes no cambie sus hábitos y continúen tomando cereales donde

clásicamente los tomaba. Otro factor que puede influir es la preocupación que suelen tener los padres de este tipo de pacientes por cumplir la dieta adecuadamente lo que hace que en muchos casos se impliquen más en la realización de una dieta sana, con alimentos frescos y cocinados en casa, con una mejor relación en principios inmediatos, oligoelementos, vitaminas y fibra, evitando entre otras cosas el consumo de alimentos preparados ricos en grasas. La existencia de relación entre la ingesta calórica y la densidad mineral ósea se ha analizado en diversos estudios. En nuestro caso se demuestra una relación inversa entre la DMO y la ingesta calórica, no existiendo relación entre el z score y la ingesta calórica. Los estudios que analizan esta relación son principalmente de adultos y en general, se ha comprobado que una ingesta calórica por debajo de las recomendaciones para la edad provoca una menor densidad mineral ósea. Cuando se analiza la relación en los casos de aportes normales o aumentados no se ha encontrado relación entre ellas ya que se ha comprobado que es realmente el IMC el que condiciona un mejor estado óseo. De todas formas, es interesante ver como ingestas de alimentos con alta densidad calórica como dulces y grasas se han asociado a una peor DMO, siendo esta mejor cuando el consumo de frutas o verduras es mayor proporcionalmente. (148-150)

La ingesta baja de fibra en relación con las recomendaciones existentes es una constante en los diferentes estudios(20, 21, 25, 144-146, 151) de dieta sin gluten, atribuyéndose al descenso de la ingesta de cereales con gluten, los cuales llegan a aportar el 35% de la fibra diaria en los niños(146). Como se ve en nuestros datos, la ingesta baja de fibra probablemente no sea un problema que exclusivamente ocurra en los pacientes celíacos, sino que se da en general en la población infantil. Una posible solución a este problema cuando se realiza la dieta sin gluten podría ser promover por un lado el consumo de legumbres, frutas, frutos secos y por otro el de pseudocereales permitidos pero menos habituales como la quinoa, amaranto o el trigo sarraceno que presentan una mayor cantidad de fibra y ácidos grasos poliinsaturados que cereales como el arroz(152).

Excepto la vitamina D y el zinc, el aporte de oligoelementos y vitaminas en ambos tipos de dieta es normal. En este campo existen series que muestran un aporte adecuado de calcio(44), mientras que otros artículos muestran la existencia de un déficit en la ingesta de vitamina B6, hierro, magnesio, fósforo o calcio en la dieta sin gluten(33, 138). En relación con el déficit en la ingesta de vitamina D tanto en la dieta con gluten como sin

él, es interesante ver como si bien no se acompañó con una cifras de 25 OH vitamina D en plasma por debajo de los valores normales (20-100 ng/ml ó 50-250 nmol/l)(153, 154) en ningún momento –a diferencia de otras series: 16-54%(42, 44, 138)-, si hubo un aumento significativo en sus cifras plasmáticas que se unen a un descenso en las cifras de parathormona. Esta relación se pone de manifiesto en nuestra serie en el momento del diagnóstico donde se demuestra una correlación inversa entre ambos parámetros( $p=0'14$ ). La existencia de hiperparatiroidismo se ha llegado a observar hasta en un 53,7% de los niños al diagnóstico(35). Datos de hiperparatiroidismo tan extremos no encontramos en nuestra serie, ya que sólo un 7% de los niños presentan cifras de hiperparatiroidismo ( $PTH>65\text{pg/ml}$ ). De cualquier modo, tanto partiendo de cifras de PTH elevadas como dentro de los rangos normales, el descenso de los valores de PTH como los observados en nuestra serie se han documentado en otras series. (29-31, 34, 42, 137, 138). La relevancia de este hecho ha provocado que se llegue a postular la realización de una determinación de PTH a los pacientes con celiaquía como indicativo al diagnóstico de un mayor riesgo de afectación ósea(30, 33). Una posible explicación a la no existencia de déficit plasmático de vitamina D, a diferencia de los observado en otras series (35,18% de los pacientes con déficit de vitamina D) (33, 42, 137, 138), es que la población del estudio es de una zona (Sevilla) donde las horas de sol son elevadas, siendo ésta una fuente importante de esta vitamina. De hecho en algunos estudios se ha demostrado la existencia de una variación estacional de los niveles de vitamina D, siendo esta deficitaria en los meses con menos horas de sol(44). Por otro lado, la mejoría de las cifras de vitamina D y el descenso de las cifras de parathomona reflejan un mejor estado de la homeostasis de la vitamina D y del calcio en los pacientes celíacos que no es atribuible a un mayor consumo de ninguno de los dos micronutrientes. De hecho en nuestra serie se demuestra una relación inversa entre el consumo del calcio y las cifras de DMO. Esta situación puede explicarse por la recuperación de la enteropatía, la cual permite una mayor absorción de vitamina D a nivel intestinal y un mejor aprovechamiento de la misma al aumentar las proteínas transportadoras vitaminaD-dependientes de calcio (calbindin-D9k) (31). Esta mejoría provoca secundariamente una recuperación de los parámetros densitométricos que se observa en nuestra serie y su aparente falta de relación con la ingesta de nutrientes.

Debido a la existencia de esta relación entre la vitamina D y una mejor DMO, diversos autores han sugerido la necesidad de suplementar con vitamina D a pacientes celíacos

con osteopenia para favorecer su recuperación (20, 138). Nuestros datos muestran la relación positiva entre un mayor aporte de vitamina D y un mejor estado óseo en los pacientes al diagnóstico de la enfermedad, aunque esta relación no se ha demostrado en los pacientes que están realizando la dieta sin gluten, lo cual podría inducir a pensar que si bien el principal factor para la recuperación ósea en los pacientes celiacos es la correcta cumplimentación de la dieta, una ingesta adecuada de vitamina D podría favorecer por un lado una menor afectación en el momento del diagnóstico y por otro que la suplementación en los pacientes en los que se demuestre un déficit en su ingesta al diagnóstico de la enfermedad podría hacer mejorar la densitometría ósea. La correcta relación entre la ingesta de vitamina D y la DMO se debe estudiar para poder dar unas recomendaciones aceptables.

Junto con el déficit en la ingesta y niveles de vitamina D, uno de los fenómenos clásicamente relacionados con una disminución en la densidad mineral ósea es un déficit en la ingesta y absorción de calcio que provocan una hipocalcemia (0- 40,7% según las series) (31, 34, 39, 137, 138). En el caso de la celiaquía, uno de los principales factores que suele exponerse como causante de un deficiente aporte de calcio es la disminución en la toma de lácteos debido a la existencia de una intolerancia a la lactosa secundaria(21, 25, 33, 145, 152), lo que ha propiciado que haya autores que defiendan la suplementación con calcio (39). Tanto el déficit en el aporte de calcio como la relación entre un aporte deficiente y una mayor afectación ósea no se han constatado en nuestra serie. La existencia de un aporte de calcio adecuado puede deberse a que no existe ningún paciente que haya llevado una dieta sin lactosa. Por otro lado, la existencia de una relación inversa entre el consumo de calcio y la DMO encontrada en nuestra serie nos induce a pensar que no parece necesaria una suplementación con calcio en la dieta de los pacientes celiacos sin restricción de la lactosa en la dieta, ya que probablemente la mejoría en la situación ósea se deba más a una mejora en la enteropatía y de la homeostasis del eje PTH-vitamina D, que a un aumento de los aportes, como se comentó anteriormente en el caso de la vitamina D. De hecho la verdadera influencia del consumo de calcio en la densidad ósea está en discusión ya que en general se ha demostrado que tiene efecto mínimo sobre la densidad ósea y la disminución del riesgo de osteoporosis y fractura en adultos. Es cuando se administra conjuntamente con vitamina D y suplementando a la dieta cuando se han visto los efectos beneficiosos, siendo actualmente sólo recomendado la suplementación en el caso



de existir un déficit en la dieta. (155, 156)

En relación al zinc, queremos destacar que su ingesta es deficitaria en ambos tipos de dietas. Existen estudios que exponen la relación entre el déficit de zinc, la dieta sin gluten (146, 147, 152) y una mayor severidad de la atrofia vellositaria, aunque la verdadera repercusión del déficit de aporte se desconoce (20, 157, 158).

Donde sí se demuestra un cambio es en el aporte de los distintos tipos de ácidos grasos con una disminución de la ingesta de saturados en favor de un aumento de los monoinsaturados. Hopman et al, Öhlund et al y otros autores, observan cifras de ingestión de AG saturados elevadas (12% y 14,5% respectivamente) para las recomendaciones actuales de una ingesta  $<10\%$ , como ocurre en nuestro caso (13,20%). Conjuntamente a la elevada ingesta de AG saturados existe una ingesta deficitaria en ácidos grasos poliinsaturados (5,74%) también documentada en otras series (25, 146, 151). Pensamos que este hecho refleja que la dieta en nuestros pacientes (con y sin gluten), está muy condicionada por el consumo de grasas de origen animal y es baja en grasas de origen vegetal o pescados ricos en AG poliinsaturados.

#### 4. Parámetros antropométricos.

La mejora en los parámetros antropométricos es similar a la encontrada en otros estudios de pacientes pediátricos (33, 34, 38, 138, 158, 159). El hecho de que no exista un incremento en el aporte calórico ni un cambio en la distribución de macronutrientes nos hace pensar que esta recuperación en peso y talla se debe esencialmente a la recuperación de la enteropatía que padecen estos pacientes, más que por un incremento en el aporte calórico.

Mariani et al, presentó cifras de 72% de sobrepeso entre adolescentes con dieta sin gluten(145), que no se han visto reflejadas en otros estudios que la estiman alrededor del 12-38% entre los celíacos (21, 25, 146, 157, 160, 161). En nuestro caso, no encontramos tasas elevadas de sobrepeso (2,9% al diagnóstico vs. 2,8% tras un año sin gluten) ni de obesidad tanto en el diagnóstico como en el control al año (4,34% al diagnóstico por un 5,55% con la dieta sin gluten). Datos alejados de los publicados por el Ministerio de Sanidad español de un 13,26% de sobrepeso y un 15,15% de obesidad en la población infantil española(162) con las cuales existe un diferencia significativa al debut ( $p=0'0093$ , nivel de confianza 95%) y al año ( $p=0'02$ , nivel de confianza del 95%).

## 5. Parámetros analíticos

La afectación analítica más importante es la existencia de una anemia ferropénica en el 27,27% de los pacientes, típica en esta enfermedad(24) al debut a pesar de presentar una ingesta adecuada de hierro. Esta anemia se recupera al año, lo cual es indicativo del problema de absorción tan importante que presenta este mineral en los pacientes celíacos.

No se encontraron déficits séricos en las cifras de vitamina D, B12, magnesio, ni ácido fólico. Aparte de la ya comentada recuperación de las cifras de vitamina D, el único cambio destacable es la mejora en las cifras de fólico en el control al año. En relación con la vitamina B12 y el ácido fólico los datos ofrecidos por la literatura muestran resultados contradictorios desde series en las que se documentan déficits de vitamina B12 y de ácido fólico en un 11-41% y 4,7-31% de los casos respectivamente, hasta series con normalidad en estos parámetros (24,17,2,19,5). En relación a este campo cabe destacar la no existencia de hiperhomocisteinemia que se ha reportado en otras series, hecho de importancia por ser un factor de desarrollo de enfermedad cardiovascular y que refleja un correcto estado nutricional en este campo.(10, 11)

Uno de los objetivos propuestos en la planificación del estudio era el análisis de distintos parámetros a priori relacionados con la osificación. De los mayores problemas existentes para la realización de dicho estudio es la falta de uniformidad en los parámetros de referencia de normalidad para niños en la población española. Para nuestro estudio se tomaron como referencia los datos publicados por Huang et al para niños a partir de 6 años y los de Wyness et al. para niños entre los 0-6 años, al ser los que aportan datos de raza caucásica, con métodos de análisis similares a los realizados en nuestro laboratorio y ser los más recientes publicados(132, 133). En este aspecto, se investigó tanto si existía alteración en algunos de los siguientes parámetros: magnesio, la PTH, los productos de degradación del colágeno, el propéptido procolágeno I, la fosfatasa alcalina ósea, el calcio urinario y el fósforo en orina; así como si había variación significativa en sus valores tras un año de seguimiento. El resultado fue que salvo las mejoras comentadas anteriormente de los parámetros de PTH y vitamina D, no se encuentran unos valores alterados de estos parámetros. Por otro lado, la búsqueda de relación entre estos parámetros y la DMO o el z score de la DMO, no ha encontrado ninguna relación. La falta de afectación de parámetros en principio relacionados con el metabolismo óseo

suele ser lo más frecuente. Así existen publicaciones en las que no se encuentran valores alterados de fósforo, fosfatasa alcalina, magnesio, PTH, calcio urinario y sérico (33, 39, 43, 139), mientras que Marger et al describe un descenso significativo de la FAO tras un año de dieta sin gluten(138). Por otro lado, existen pocos estudios que hayan analizado la relación entre algunos de estos marcadores y la DMO con resultados en ocasiones contradictorios. Sólo está recogida el descenso en el N telopéptido terminal del colágeno tipo 1(138), el aumento de las cifras de DMO con las del calcio ( $p<0.05$ ), la mejora de las cifras de DMO con el aumento de las cifras de vitamina D (30), y una elevación de las cifras de fósforo en pacientes con una DMO menor tras dos años de dieta sin gluten (30); con una falta de relación entre los niveles de fosfato, FA, PTH, vitamina D y la DMO (29, 138). Fouda et al. en una revisión exhaustiva de la afectación de la mineralización ósea y la enfermedad celiaca, recomienda únicamente la determinación de calcio, albúmina, vitamina D3 y PTH como determinaciones analíticas(37). La falta de relaciones claras en la literatura nos hace pensar que aún no se conocen con exactitud los marcadores útiles o como deben de usarse para monitorizar la salud ósea en la infancia, lo que aumenta la necesidad de la realización de densitometría en aquellos niños, como los celíacos, en los que debe controlarse su densidad mineral ósea.

## VII. CONCLUSIONES.

1. Los niños con enfermedad celiaca presentan una DMO alterada al diagnóstico, existiendo una recuperación de la misma al año de seguir la dieta sin gluten.
2. Un mejor estado nutricional favorece presentar una mejor mineralización ósea al diagnóstico.
3. La ingestión de unas cantidades de vitamina D mayores se asocia con una mejor mineralización ósea en los pacientes celíacos que aún no han iniciado la dieta sin gluten.
4. No existen cambios ni déficits significativos en la dieta sin gluten que justifiquen una alteración en la mineralización ósea con excepción de la ingesta de vitamina D.
5. No existen unos marcadores analíticos fiables para la detección de una mayor afectación de la mineralización ósea en los pacientes celíacos.

6. La mejoría de la mineralización ósea en los pacientes celiacos se refleja en una mejoría del metabolismo fosfocálcico con una bajada de las cifras de PTH y un aumento de la Vitamina D plasmática.

## VIII. ANEXO I:

### Encuesta dietética

Registro de tres días

(incluya un festivo)

Número:

Apellidos:

Nombre:

Instrucciones

- En este cuestionario deberá ir anotando todos los alimentos y bebidas consumidos durante tres días, incluyendo un festivo.
- Es muy importante no cambiar el régimen habitual de comidas.
- Para evitar que se olvide algún alimento, conviene anotar todo inmediatamente después de comer. No olvide indicar todos los ingredientes de cada receta.
- También deberá anotar todas las comidas realizadas fuera de casa.
- El cuestionario consta de dos hojas para cada día. En la primera deberá anotar todos los menús y procesos culinarios y en la segunda tendrá que describir con detalle todos los ingredientes y cantidades (pesando o mediante medidas caseras: cucharada sopera, de postre, vaso de agua, vino, plato hondo, ...). Trate de estimar el aceite en cucharadas soperas o de postre.
- Indique si el peso del alimento se refiere al alimento crudo o cocinado, con o sin desperdicios. Indique el método de preparación culinario (frito, cocido, asado, etc.)
- Cada hoja deberá estar identificada con la fecha y el día de la semana.
- En la parte posterior de la hoja, anote las recetas de los platos muy elaborados.
- No olvide indicar: azúcar, pan, aceite, tapas, refrescos, bebidas alcohólicas, dulces, chocolate, frutos secos, patatas fritas,...
- En cuanto a la descripción de los alimentos, es importante mencionar la calidad y tipo del alimento: tipo de leche, carnes, pescados, pan, mantequilla o margarina, etc.

- Siempre que sepa el nombre comercial del producto, anótelos.
- Anote el tipo y marca del aceite/s utilizado/s.
- No olvide indicar las bebidas consumidas (refrescos, zumos, etc), el pan, el azúcar.
- Indique si se trata de un alimento precocinado, listo para comer, ...
- Anote todas las dudas que le hayan surgido al rellenar el cuestionario.
- Anote los alimentos consumidos entre horas
- Estimar la cantidad consumida en medidas caseras o en raciones (grande, mediana, pequeña).

La información que figura en el envase de muchos alimentos puede ser muy útil para este fin.

- Para facilitar el recuerdo, escribir inicialmente el menú consumido en cada comida y luego describir detalladamente los ingredientes. Igualmente, para ayudar a la memoria, es muy práctico recordar dónde comimos, con quién, a qué hora, quién preparó la comida. Todos estos detalles nos ayudan a “entrar en situación”.

#### *DATOS ORIENTATIVOS:*

##### **LÍQUIDOS EN GENERAL Y LECHE:**

1 vaso: 150 – 200 cc

1 taza de té: 200 cc

1 taza de desayuno: 250 cc

##### **YOGUR:**

1 vaso : 200 cc

1 yogur normal 125 g

##### **QUESOS:**

Rallado:

1 cdta. tipo té: 5 g

1 cda. sopera: 15 g

Para sándwich:

Loncha 10 – 15 g

Fresco o duros:

1 porción tamaño cassette de música: 60 g

Para untar:

1 cdta. tipo té: 5 g

1 cdta. tipo postre: 10 g

1 cda. sopera: 20 g

#### **HUEVOS:**

1 unidad mediana: 50 – 60 g.

#### **CARNES:**

Pollo:

¼ sin hueso: 150 – 200 g

Rojas (vaca):

1 filete pequeño: 100 g

1 filete mediano: 150 g

1 filete grande: 200 – 250 g

1 porción para guiso: 50 – 80 g

1 escalope mediano: 80 g

#### **PESCADO:**

1 filete pequeño: 100 g

1 filete mediano: 150 g

1 filete grande: 200 g

#### **FIAMBRES:**

1 loncha jamón: 25 – 30 g

#### **VEGETALES COCIDOS (purés,**

acelgas, etc.):

1 taza: 200 – 250 g

½ plato (guarnición): 250 - 300 g

#### **FRUTAS Y VEGETALES POR UNIDAD**

(tomate, zanahoria, patatas, etc.):

1 unidad pequeña: 80 – 100 g

1 unidad mediana: 150 – 200 g

1 unidad grande: 250 g

#### LEGUMBRES / ARROZ (Peso Cocido):

1 cda. sopera: 20 g

1 cucharón: 80 g

1 taza o plato mediano: 200 – 250 g

Estos alimentos triplican su peso luego de la cocción por la absorción de agua.

Ej: una porción de 200 g de arroz se obtiene partiendo de 70 g de arroz crudo.

#### PASTAS (Peso Cocido):

1 plato moderado: 200 g

1 plato abundante: 300 g

Estos alimentos, en general duplican su peso con la cocción. Las pastas frescas

ganan menos peso luego de la cocción debido a una menor absorción de agua.

#### MASA DE PIZZA:

1 porción media masa: 40 g aprox.

#### PAN:

De molde:

1 rebanada: 20 – 25 g

Francés:

1 unidad pequeña (mignón): 40 g

1 unidad mediana (felipe): 70 g

Pan de hamburguesa:

1 unidad: 60 g

Tostadas (de las compradas tipo molde):

1 unidad: 10 g

**Hoja de Menús****PRIMER DÍA**

Fecha:

Día de la semana:

Hora: Lugar:	<b>DESAYUNO</b>
Hora: Lugar:	<b>MEDIA MAÑANA</b>
Hora: Lugar:	<b>COMIDA</b>
Hora: Lugar:	<b>MERIENDA</b>
Hora: Lugar:	<b>CENA</b>
Hora: Lugar:	<b>OTRAS</b>





## PRIMER DÍA

[illegible]

**Hoja de Menús****SEGUNDO DÍA**

Fecha:

Día de la semana:

Hora:	<b>DESAYUNO</b>
Lugar:	
Hora:	<b>MEDIA MAÑANA</b>
Lugar:	
Hora:	<b>COMIDA</b>
Lugar:	
Hora:	<b>MERIENDA</b>
Lugar:	
Hora:	<b>CENA</b>
Lugar:	
Hora:	<b>OTRAS</b>
Lugar:	



## SEGUNDO DÍA

[illegible]

**Hoja de Menús****TERCER DÍA**

Fecha:

Día de la semana:

Hora:	<b>DESAYUNO</b>
Lugar:	
Hora:	<b>MEDIA MAÑANA</b>
Lugar:	
Hora:	<b>COMIDA</b>
Lugar:	
Hora:	<b>MERIENDA</b>
Lugar:	
Hora:	<b>CENA</b>
Lugar:	
Hora:	<b>OTRAS</b>
Lugar:	



## TERCER DÍA

[illegible]

## IX. ANEXO II

- INFORMACION AL PACIENTE. TITULO DEL PROYECTO: ESTUDIO DE LA MINERALIZACIÓN OSEA EN LOS NIÑOS CON ENFERMEDAD CELIACA.



- o Antes de proceder a la firma de este consentimiento informado, lea atentamente la información que a continuación se le facilita y realice las preguntas que considere oportunas.
- o La enfermedad celiaca es una patología digestiva provocada por una intolerancia al gluten que provoca un cuadro malabsortivo que se manifiesta con dolor abdominal, vómitos, diarrea o estreñimiento, déficit nutricionales, anemia, fallo de crecimiento entre otras manifestaciones. Su tratamiento se basa en seguir una dieta estricta sin gluten.
- o El objetivo de este estudio es valorar la dieta en los pacientes celiacos antes y después de la retirada del gluten y su relación con la mejora de los distintos aspectos clínicos, prestando especial interés a la mineralización ósea.
- o La participación en este estudio permitirá un mayor conocimiento de la enfermedad, permitiendo tener más datos de posibles alteraciones asociadas y de respuesta a la dieta sin gluten.
- o La participación supondrá la realización de una analítica de sangre, de orina y de una densitometría al diagnóstico de la enfermedad y al año de seguir la dieta sin gluten.
- o La densitometría consiste en la determinación de la densidad mineral ósea mediante un aparato de rayos X, cuya radiación es mínima (la equivalente a un día de exposición solar aproximadamente.)
- o A parte de estas exploraciones complementarias, se le pedirá que registre la ingesta de su hijo/a durante 3 días de una semana para poder hacer una valoración nutricional de la dieta que está realizando su hijo.
- o Usted podrá en cualquier momento abandonar el estudio de manera libre y unilateral sin que ello repercuta en los cuidados médicos que requiera su hijo.
- o Los datos obtenidos serán manejados de manera anónima de acuerdo a los principios recogidos en la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre de Protección de Datos de Carácter Personal.
- o La información/donación obtenida se utilizará exclusivamente para los fines específicos de este estudio
- o La participación en el estudio es voluntaria.

CONSENTIMIENTO INFORMADO – CONSENTIMIENTO ESCRITO DEL  
PACIENTE:

ESTUDIO DE LA MINERALIZACIÓN OSEA EN LOS NIÑOS CON  
ENFERMEDAD CELIACA

- Yo,  
(nombre/apellidos).....como  
padre/tutor                      del                      menor                      (nombre/apellidos)  
.....  
.....
- He leído el documento informativo que acompaña a este consentimiento  
informativo al paciente
- He podido hacer preguntas sobre el estudio de la mineralización ósea en los  
niños con enfermedad celiaca.
- He recibido suficiente información sobre este estudio. He hablado con el  
profesional sanitario informador .....  
.....
- Comprendo que mi participación es voluntaria y soy libre de participar o no en  
el estudio.
- Se me ha informado que todos los datos obtenidos en este estudio serán  
confidenciales y se tratarán conforme establece la Ley Orgánica de Protección  
de Datos de Carácter Personal 15/99

- Se me ha informado de que la donación/información obtenida sólo se utilizará para los fines específicos del estudio.
- Comprendo que puedo retirarme del estudio:
  - o Cuando quiera
  - o Sin tener que dar explicaciones
  - o Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.
- Presto libremente mi conformidad para participar en el proyecto titulado Estudio de la mineralización ósea en niños con enfermedad celiaca

Firma del padre/tutor

Firma del profesional

Sevilla a      de      de 2.010



## X. BIBLIOGRAFIA

1. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Colletti RB, Fasano A, Guandalini S, et al. Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2005;40(1):1-19.
2. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012;54(1):136-60.
3. Schuppan D, Junker Y, Barisani D. Celiac disease: from pathogenesis to novel therapies. *Gastroenterology*. 2009;137(6):1912-33.
4. Polanco I. Celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2008;47 Suppl 1:S3-6.
5. Armstrong MJ, Robins GG, Howdle PD. Recent advances in coeliac disease. *Current opinion in gastroenterology*. 2009;25(2):100-9.
6. Anderson RP. Coeliac disease: current approach and future prospects. *Intern Med J*. 2008;38(10):790-9.
7. E. Donat Aliaga CR-K, I. Polanco Allué. Enfermedad celiaca. Tratamiento en gastroenterología, hepatología y nutrición pediátricas. Madrid: Ergon; 2008. p. 99-110.
8. Selimoglu MA, Karabiber H. Celiac disease: prevention and treatment. *J Clin Gastroenterol*. 2010;44(1):4-8.
9. Al-toma A, Verbeek WH, Mulder CJ. The management of complicated celiac disease. *Dig Dis*. 2007;25(3):230-6.
10. Halfdanarson TR, Litzow MR, Murray JA. Hematologic manifestations of celiac disease. *Blood*. 2007;109(2):412-21.
11. Ho-Yen C, Chang F, van der Walt J, Mitchell T, Ciclitira P. Recent advances in refractory coeliac disease: a review. *Histopathology*. 2009;54(7):783-95.
12. E. Alonso Aperte GVM. Ácido fólico y vitamina B12. In: Gil A, editor. *Tratando de nutrición clínica*. I. Madrid: Panamericana; 2010. p. 813-33.
13. Malterre T. Digestive and nutritional considerations in celiac disease: could supplementation help? *Altern Med Rev*. 2009;14(3):247-57.
14. Ludvigsson JF, Welander A, Lassila R, Ekbom A, Montgomery SM. Risk of thromboembolism in 14,000 individuals with coeliac disease. *British journal of haematology*. 2007;139(1):121-7.
15. Hallert C, Svensson M, Tholstrup J, Hultberg B. Clinical trial: B vitamins improve health in patients with coeliac disease living on a gluten-free diet. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009;29(8):811-6.
16. Hadithi M, Mulder CJ, Stam F, Azizi J, Crusius JB, Pena AS, et al. Effect of B vitamin supplementation on plasma homocysteine levels in celiac disease. *World J Gastroenterol*. 2009;15(8):955-60.
17. Kempainen TA, Kosma VM, Janatuinen EK, Julkunen RJ, Pikkarainen PH, Uusitupa MI. Nutritional status of newly diagnosed celiac disease patients before and after the institution of a celiac disease diet--association with the grade of mucosal villous atrophy. *The American journal of clinical nutrition*. 1998;67(3):482-7.
18. Haapalahti M, Kulmala P, Karttunen TJ, Paajanen L, Laurila K, Maki M, et al. Nutritional status in adolescents and young adults with screen-detected celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005;40(5):566-70.
19. Rujner J, Socha J, Syczewska M, Wojtasik A, Kunachowicz H, Stolarczyk A. Magnesium status in children and adolescents with coeliac disease without malabsorption symptoms. *Clin Nutr*. 2004;23(5):1074-9.
20. Kupper C. Dietary guidelines and implementation for celiac disease. *Gastroenterology*. 2005;128(4 Suppl 1):S121-7.
21. Thompson T, Dennis M, Higgins LA, Lee AR, Sharrett MK. Gluten-free diet survey: are Americans with coeliac disease consuming recommended amounts of fibre, iron, calcium and grain foods? *J Hum Nutr Diet*. 2005;18(3):163-9.
22. Kempainen TA, Heikkinen MT, Ristikankare MK, Kosma VM, Julkunen RJ. Nutrient intakes during diets including unkilned and large amounts of oats in celiac disease. *Eur J Clin Nutr*. 2010;64(1):62-7.
23. Bardella MT, Fredella C, Prampolini L, Molteni N, Giunta AM, Bianchi PA. Body composition and dietary intakes in adult celiac disease patients consuming a strict gluten-free diet. *Am J Clin Nutr*. 2000;72(4):937-9.

24. Jadresin O, Misak Z, Sanja K, Sonicki Z, Zizic V. Compliance with gluten-free diet in children with coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2008;47(3):344-8.
25. Hopman EG, le Cessie S, von Blomberg BM, Mearin ML. Nutritional management of the gluten-free diet in young people with celiac disease in The Netherlands. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition.* 2006;43(1):102-8.
26. Hallert C, Grant C, Grehn S, Granno C, Hulten S, Midhagen G, et al. Evidence of poor vitamin status in coeliac patients on a gluten-free diet for 10 years. *Alimentary pharmacology & therapeutics.* 2002;16(7):1333-9.
27. Kinsey L, Burden ST, Bannerman E. A dietary survey to determine if patients with coeliac disease are meeting current healthy eating guidelines and how their diet compares to that of the British general population. *Eur J Clin Nutr.* 2008;62(11):1333-42.
28. Gemme G, Vignolo M, Naselli A, Garzia P. Linear growth and skeletal maturation in subjects with treated celiac disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition.* 1999;29(3):339-42.
29. Kalayci AG, Kansu A, Girgin N, Kucuk O, Aras G. Bone mineral density and importance of a gluten-free diet in patients with celiac disease in childhood. *Pediatrics.* 2001;108(5):E89.
30. Margoni D, Chouliaras G, Duscas G, Voskaki I, Voutsas N, Papadopoulou A, et al. Bone health in children with celiac disease assessed by dual x-ray absorptiometry: effect of gluten-free diet and predictive value of serum biochemical indices. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012;54(5):680-4.
31. Kavak US, Yuce A, Kocak N, Demir H, Saltik IN, Gurakan F, et al. Bone mineral density in children with untreated and treated celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2003;37(4):434-6.
32. Capriles VD, Martini LA, Areas JA. Metabolic osteopathy in celiac disease: importance of a gluten-free diet. *Nutr Rev.* 2009;67(10):599-606.
33. Sdepanian VL, de Miranda Carvalho CN, de Moraes MB, Colugnati FA, Fagundes-Neto U. Bone mineral density of the lumbar spine in children and adolescents with celiac disease on a gluten-free diet in Sao Paulo, Brazil. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2003;37(5):571-6.
34. Szathmari M, Tulassay Z, Arato A, Bodanszky H, Szabo A, Tulassay Z. Bone mineral content and density in asymptomatic children with coeliac disease on a gluten-free diet. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2001;13(4):419-24.
35. Krupa-Kozak U. Pathologic bone alterations in celiac disease: etiology, epidemiology, and treatment. *Nutrition.* 2014;30(1):16-24.
36. Szathmari M, Tulassay Z, Arato A, Bodanszky H, Szabo A, Tulassay Z. [Mineral content in bones of children with symptomless celiac disease and gluten-free diet]. *Orv Hetil.* 1997;138(51):3233-8.
37. Fouda MA, Khan AA, Sultan MS, Rios LP, McAssey K, Armstrong D. Evaluation and management of skeletal health in celiac disease: position statement. *Can J Gastroenterol.* 2012;26(11):819-29.
38. Jatla M, Zemel BS, Bierly P, Verma R. Bone mineral content deficits of the spine and whole body in children at time of diagnosis with celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2009;48(2):175-80.
39. Heyman R, Guggenbuhl P, Corbel A, Bridoux-Henno L, Tourtelier Y, Balencon-Morival M, et al. Effect of a gluten-free diet on bone mineral density in children with celiac disease. *Gastroenterol Clin Biol.* 2009;33(2):109-14.
40. Vilppula A, Kaukinen K, Luostarinen L, Krekelä I, Patrikainen H, Valve R, et al. Clinical benefit of gluten-free diet in screen-detected older celiac disease patients. *BMC Gastroenterol.* 2011;11:136.
41. Bianchi ML. Osteoporosis in children and adolescents. *Bone.* 2007;41(4):486-95.
42. Turner J, Pellerin G, Mager D. Prevalence of metabolic bone disease in children with celiac disease is independent of symptoms at diagnosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2009;49(5):589-93.
43. Tau C, Mautalen C, De Rosa S, Roca A, Valenzuela X. Bone mineral density in children with celiac disease. Effect of a Gluten-free diet. *Eur J Clin Nutr.* 2006;60(3):358-63.
44. Blazina S, Bratanic N, Campa AS, Blagus R, Orel R. Bone mineral density and importance of strict gluten-free diet in children and adolescents with celiac disease. *Bone.* 2010;47(3):598-603.
45. Rios LP, Khan A, Sultan M, McAssey K, Fouda MA, Armstrong D. Approach to diagnosing celiac disease in patients with low bone mineral density or fragility fractures: multidisciplinary task force report. *Can Fam Physician.* 2013;59(10):1055-61, e441-8.
46. Mangione RA. Celiac disease and osteoporosis. *Am J Health Syst Pharm.* 2008;65(17):1601; author reply -2.
47. Drummond FJ, Annis P, O'Sullivan K, Wynne F, Daly M, Shanahan F, et al. Screening for asymptomatic celiac disease among patients referred for bone densitometry measurement. *Bone.* 2003;33(6):970-4.
48. De Marco MA, Foni GE, Campitelli L, Raffini E, Di Trani L, Delogu M, et al. Circulation of influenza viruses in wild waterfowl wintering in Italy during the 1993-99 period: evidence of virus shedding and seroconversion in wild ducks. *Avian Dis.* 2003;47(3 Suppl):861-6.

49. Al-Toma A, Verbeek WH, Mulder CJ. Update on the management of refractory coeliac disease. *J Gastrointest Liver Dis.* 2007;16(1):57-63.
50. Castillejo de Villasante G-O, E. Prevención primaria de la enfermedad celiaca. In: Polanco Allué I, editor. *Enfermedad celiaca, presente y futuro.* 1 ed. Madrid: Ergon; 2013. p. 113-20.
51. Vriezinga SL, Auricchio R, Bravi E, Castillejo G, Chmielewska A, Crespo Escobar P, et al. Randomized feeding intervention in infants at high risk for celiac disease. *N Engl J Med.* 2014;371(14):1304-15.
52. Ross Michael H PW. Tejido óseo. In: Ross Michael PW, editor. *Histología Texto y Atlas color con biología celular y molecular.* 5 ed. Madrid: Lippincott Williams; 2007. p. 218-45.
53. Stevens A, James L. Sistema musculoesquelético. In: Stevens A, editor. *Human Histology.* 2ª ed. Barcelona: harcourt Brace; 1998. p. 227-50.
54. Buck DW, Dumanian GA. Bone biology and physiology: Part I. The fundamentals. *Plast Reconstr Surg.* 2012;129(6):1314-20.
55. M. Alonso Franch MPRdR. Nutrición y enfermedad ósea en la infancia. In: Gil A, editor. *Tratado de nutrición clínica. IV.* Madrid: Panamericana; 2010. p. 813-33.
56. Shaw NJ. Management of osteoporosis in children. *Eur J Endocrinol.* 2008;159 Suppl 1:S33-9.
57. Bogunovic L, Doyle SM, Vogiatzi MG. Measurement of bone density in the pediatric population. *Curr Opin Pediatr.* 2009;21(1):77-82.
58. M. Alonso Franch MPRdR. Nutrición y enfermedad ósea en la infancia. In: Gil A, editor. *Tratado de nutrición clínica. IV.* Madrid: Panamericana; 2010. p. 813-33.
59. Servía A. del hábito tabáquico sobre la edad ósea, remodelado óseo, hormonas sexuales y otras hormonas y eje parathormona-vitamina D y análisis de los efectos de la suspensión del tabaquismo. Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona; 2002.
60. Manolagas SC. From estrogen-centric to aging and oxidative stress: a revised perspective of the pathogenesis of osteoporosis. *Endocr Rev.* 2010;31(3):266-300.
61. Jilka RL. Biology of the basic multicellular unit and the pathophysiology of osteoporosis. *Med Pediatr Oncol.* 2003;41(3):182-5.
62. Rosen HN. Bone physiology and biochemical markers of bone turnover. 2011 [
63. Parfitt AM. Targeted and nontargeted bone remodeling: relationship to basic multicellular unit origination and progression. *Bone.* 2002;30(1):5-7.
64. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature.* 2003;423(6937):337-42.
65. Dallas SL, Rosser JL, Mundy GR, Bonewald LF. Proteolysis of latent transforming growth factor-beta (TGF-beta)-binding protein-1 by osteoclasts. A cellular mechanism for release of TGF-beta from bone matrix. *J Biol Chem.* 2002;277(24):21352-60.
66. Molist Pilar PMA, Megías M. Atlas de Histología vegetal y animal. Vigo2014 [Available from: <http://mmegias.webs.uvigo.es/descargas/a-conectivo-propio.pdf>.
67. Sánchez Cano D. Efecto del Adalimumab sobre el metabolismo mineral óseo en la enfermedad de Crohn. Granada: Granada; 2010.
68. Reynaga Montecinos B, Noemí Zeni S. Marcadores bioquímicos del remodelado óseo. Utilidad clínica. *Acta Bioquímica Clínica latinoamericana.* 2009;43(2):177-93.
69. Sudhoff H, Jung JY, Ebmeyer J, Faddis BT, Hildmann H, Chole RA. Zoledronic acid inhibits osteoclastogenesis in vitro and in a mouse model of inflammatory osteolysis. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2003;112(9 Pt 1):780-6.
70. Rogers MJ, Chilton KM, Coxon FP, Lawry J, Smith MO, Suri S, et al. Bisphosphonates induce apoptosis in mouse macrophage-like cells in vitro by a nitric oxide-independent mechanism. *J Bone Miner Res.* 1996;11(10):1482-91.
71. Delgado Pecellin I. Densidad mineral ósea y marcadores de remodelado óseo en fenilcetonúricos. Sevilla: Sevilla; 2007.
72. Kocyigit H, Bal S, Atay A, Koseoglu M, Gurgan A. Plasma leptin values in postmenopausal women with osteoporosis. *Bosn J Basic Med Sci.* 2013;13(3):192-6.
73. McSheehy PM, Chambers TJ. Osteoblastic cells mediate osteoclastic responsiveness to parathyroid hormone. *Endocrinology.* 1986;118(2):824-8.
74. Riancho JAGGE. Factores reguladores de la resolución ósea. *Revista metabolismo óseo y mineral.* 2003;1(2):51-66.
75. Raisz LG, Trummel CL, Holick MF, DeLuca HF. 1,25-dihydroxycholecalciferol: a potent stimulator of bone resorption in tissue culture. *Science.* 1972;175(4023):768-9.
76. Wener JA, Gorton SJ, Raisz LG. Escape from inhibition or resorption in cultures of fetal bone treated with calcitonin and parathyroid hormone. *Endocrinology.* 1972;90(3):752-9.

77. Chambers TJ, Magnus CJ. Calcitonin alters behaviour of isolated osteoclasts. *J Pathol.* 1982;136(1):27-39.
78. Fernández-Tresguerres-Hernández-Gil I, Alobera-Gracia MA, del-Canto-Pingarrón M, Blanco-Jerez L. Physiological bases of bone regeneration II. The remodeling process. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2006;11(2):E151-7.
79. Fernández-Tresguerres-Hernández-Gil I, Alobera-Gracia MA, del-Canto-Pingarrón M, Blanco-Jerez L. Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2006;11(1):E47-51.
80. Walsh MC, Choi Y. Biology of the RANKL-RANK-OPG System in Immunity, Bone, and Beyond. *Front Immunol.* 2014;5:511.
81. Nicolin V, Valentini R. Targeting RANKL in the management of bone loss in patient with breast cancer. *Ital J Anat Embryol.* 2014;119(1):44-8.
82. Manolagas SC, Jilka RL. Bone marrow, cytokines, and bone remodeling. Emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis. *N Engl J Med.* 1995;332(5):305-11.
83. Théoleyre S, Wittrant Y, Tat SK, Fortun Y, Redini F, Heymann D. The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2004;15(6):457-75.
84. Kwan Tat S, Padrines M, Théoleyre S, Heymann D, Fortun Y. IL-6, RANKL, TNF-alpha/IL-1: interrelations in bone resorption pathophysiology. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2004;15(1):49-60.
85. Felix R, Cecchini MG, Fleisch H. Macrophage colony stimulating factor restores in vivo bone resorption in the op/op osteopetrotic mouse. *Endocrinology.* 1990;127(5):2592-4.
86. Castro-Malaspina H, Gay RE, Resnick G, Kapoor N, Meyers P, Chiarieri D, et al. Characterization of human bone marrow fibroblast colony-forming cells (CFU-F) and their progeny. *Blood.* 1980;56(2):289-301.
87. Pfeilschifter J, Seyedin SM, Mundy GR. Transforming growth factor beta inhibits bone resorption in fetal rat long bone cultures. *J Clin Invest.* 1988;82(2):680-5.
88. EB R. Anatomy and ultrastructure of bone. In: JF M, editor. *Primer on the Metabolic Bone Disease and disorders of mineral metabolism.* Nueva York: Lippincott-Raven publishers; 1996. p. 3-10.
89. Yang D, Chen J, Jing Z, Jin D. Platelet-derived growth factor (PDGF)-AA: a self-imposed cytokine in the proliferation of human fetal osteoblasts. *Cytokine.* 2000;12(8):1271-4.
90. Rydziel S, Shaikh S, Canalis E. Platelet-derived growth factor-AA and -BB (PDGF-AA and -BB) enhance the synthesis of PDGF-AA in bone cell cultures. *Endocrinology.* 1994;134(6):2541-6.
91. Moura AP, Taddei SR, Queiroz-Junior CM, Madeira MF, Rodrigues LF, Garlet GP, et al. The relevance of leukotrienes for bone resorption induced by mechanical loading. *Bone.* 2014;69C:133-8.
92. Wojcicka A, Bassett JH, Williams GR. Mechanisms of action of thyroid hormones in the skeleton. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1830(7):3979-86.
93. Waung JA, Bassett JH, Williams GR. Thyroid hormone metabolism in skeletal development and adult bone maintenance. *Trends Endocrinol Metab.* 2012;23(4):155-62.
94. Gogakos AI, Duncan Bassett JH, Williams GR. Thyroid and bone. *Arch Biochem Biophys.* 2010;503(1):129-36.
95. Tanaka Y. [Glucocorticoid and Bone. Pathogenesis of glucocorticoid-induced osteoporosis]. *Clin Calcium.* 2014;24(9):1289-94.
96. Soen S. [Glucocorticoid and bone]. *Clin Calcium.* 2014;24(6):829-36.
97. Khosla S, Oursler MJ, Monroe DG. Estrogen and the skeleton. *Trends Endocrinol Metab.* 2012;23(11):576-81.
98. Calvo MS, Eyre DR, Gundberg CM. Molecular basis and clinical application of biological markers of bone turnover. *Endocr Rev.* 1996;17(4):333-68.
99. Taylor AK, Lueken SA, Libanati C, Baylink DJ. Biochemical markers of bone turnover for the clinical assessment of bone metabolism. *Rheum Dis Clin North Am.* 1994;20(3):589-607.
100. Hanson DA, Weis MA, Bollen AM, Maslan SL, Singer FR, Eyre DR. A specific immunoassay for monitoring human bone resorption: quantitation of type I collagen cross-linked N-telopeptides in urine. *J Bone Miner Res.* 1992;7(11):1251-8.
101. Yang L, Grey V. Pediatric reference intervals for bone markers. *Clin Biochem.* 2006;39(6):561-8.
102. Torres E, Mezquita P, de la Higuera M, Fernández D, M. M. Actualización sobre la determinación de marcadores de remodelado óseo. *Endocrinol Nutr.* 2003;50(6):237-43.
103. Lau KH, Onishi T, Wergedal JE, Singer FR, Baylink DJ. Characterization and assay of tartrate-resistant acid phosphatase activity in serum: potential use to assess bone resorption. *Clin Chem.* 1987;33(4):458-62.



104. Solberg LB, Stang E, Brorson SH, Andersson G, Reinholt FP. Tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) co-localizes with receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) in lysosomal-associated membrane protein 1 (LAMP1)-positive vesicles in rat osteoblasts and osteocytes. *Histochem Cell Biol*. 2014.
105. Rauchenzauner M, Schmid A, Heinz-Erian P, Kapelari K, Falkensammer G, Griesmacher A, et al. Sex- and age-specific reference curves for serum markers of bone turnover in healthy children from 2 months to 18 years. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(2):443-9.
106. van Straalen JP, Sanders E, Prummel MF, Sanders GT. Bone-alkaline phosphatase as indicator of bone formation. *Clin Chim Acta*. 1991;201(1-2):27-33.
107. Biver E, Chopin F, Coiffier G, Brentano TF, Bouvard B, Garnero P, et al. Bone turnover markers for osteoporotic status assessment? A systematic review of their diagnosis value at baseline in osteoporosis. *Joint Bone Spine*. 2012;79(1):20-5.
108. Beresford JN, Gallagher JA, Poser JW, Russell RG. Production of osteocalcin by human bone cells in vitro. Effects of 1,25(OH) $_2$ D $_3$ , 24,25(OH) $_2$ D $_3$ , parathyroid hormone, and glucocorticoids. *Metab Bone Dis Relat Res*. 1984;5(5):229-34.
109. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinosaki M, Mochizuki S, et al. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(7):3597-602.
110. Baud'huin M, Duplomb L, Teletchea S, Lamoureux F, Ruiz-Velasco C, Maillason M, et al. Osteoprotegerin: multiple partners for multiple functions. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2013;24(5):401-9.
111. Jabbar S, Drury J, Fordham JN, Datta HK, Francis RM, Tuck SP. Osteoprotegerin, RANKL and bone turnover in postmenopausal osteoporosis. *J Clin Pathol*. 2011;64(4):354-7.
112. Lee J, Vasikaran S. Current recommendations for laboratory testing and use of bone turnover markers in management of osteoporosis. *Ann Lab Med*. 2012;32(2):105-12.
113. Bunyaratavej N, Buranasinsup S. Study of validity of pyridinoline and correlation of pyridinoline and beta crosslap in postmenopausal women. *J Med Assoc Thai*. 2011;94 Suppl 5:S76-8.
114. Eyre D. New biomarkers of bone resorption. *J Clin Endocrinol Metab*. 1992;74(3):470A-C.
115. Eyre DR, Koob TJ, Van Ness KP. Quantitation of hydroxypyridinium crosslinks in collagen by high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem*. 1984;137(2):380-8.
116. Seibel MJ, Woitge H, Scheidt-Nave C, Leidig-Bruckner G, Duncan A, Nicol P, et al. Urinary hydroxypyridinium crosslinks of collagen in population-based screening for overt vertebral osteoporosis: results of a pilot study. *J Bone Miner Res*. 1994;9(9):1433-40.
117. Robins SP. Collagen crosslinks in metabolic bone disease. *Acta Orthop Scand Suppl*. 1995;266:171-5.
118. Robins SP, Woitge H, Hesley R, Ju J, Seyedin S, Seibel MJ. Direct, enzyme-linked immunoassay for urinary deoxypyridinoline as a specific marker for measuring bone resorption. *J Bone Miner Res*. 1994;9(10):1643-9.
119. Christgau S, Rosenquist C, Alexandersen P, Bjarnason NH, Ravn P, Fledelius C, et al. Clinical evaluation of the Serum CrossLaps One Step ELISA, a new assay measuring the serum concentration of bone-derived degradation products of type I collagen C-telopeptides. *Clin Chem*. 1998;44(11):2290-300.
120. E ML. Overview of dual-energy x-ray absorptiometry 2011 [
121. Bachrach LK. Osteoporosis and measurement of bone mass in children and adolescents. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*. 2005;34(3):521-35, vii.
122. Henwood MJ, Binkovitz L. Update on pediatric bone health. *J Am Osteopath Assoc*. 2009;109(1):5-12.
123. Wildman SS, Hefwood-Finley MJ. **Pediatric DXA: A Review of Proper Technique and Correct Interpretation** *J Am Osteopath Coll Radiol*. 2012;1(3):17-23.
124. 2013 Official positions. Adult and pediatrics 2014 [Available from: <http://www.iscd.org/documents/2014/02/2013-iscd-official-position-brochure.pdf>.
125. Baim S, Binkley N, Bilezikian JP, Kendler DL, Hans DB, Lewiecki EM, et al. Official Positions of the International Society for Clinical Densitometry and executive summary of the 2007 ISCD Position Development Conference. *J Clin Densitom*. 2008;11(1):75-91.
126. Gordon CM, Leonard MB, Zemel BS, Densitometry ISfC. 2013 Pediatric Position Development Conference: executive summary and reflections. *J Clin Densitom*. 2014;17(2):219-24.
127. Lewis NR, Scott BB. Should patients with coeliac disease have their bone mineral density measured? *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2005;17(10):1065-70.
128. Gordon CM, Baim S, Bianchi ML, Bishop NJ, Hans DB, Kalkwarf H, et al. Special report on the 2007 Pediatric Position Development Conference of the International Society for Clinical Densitometry. *South Med J*. 2008;101(7):740-3.

129. V N, A M, I V, B M, JM M, F SV, et al. SEGHN. Aplicación nutricional. <http://www.gastroinf.es/nutricional.%C2%A0%5B>
130. Oberhuber G. Histopathology of celiac disease. *Biomed Pharmacother.* 2000;54(7):368-72.
131. Marsh MN. Grains of truth: evolutionary changes in small intestinal mucosa in response to environmental antigen challenge. *Gut.* 1990;31(1):111-4.
132. Huang Y, Eapen E, Steele S, Grey V. Establishment of reference intervals for bone markers in children and adolescents. *Clin Biochem.* 2011;44(10-11):771-8.
133. Wyness SP, Roberts WL, Straseski JA. Pediatric reference intervals for four serum bone markers using two automated immunoassays. *Clin Chim Acta.* 2013;415:169-72.
134. Yeste D, dRL, Gussinyé M, Carrascosa A. Valores de contenido mineral ósea (CMO), densidad mineral ósea (DMO) y densidad mineral ósea volumétrica (DMOv) en niños adolescentes a nivel de la columna lumbar y femoral. *Rev Esp Pediatr.* 2003;59(1):113-8.
135. Marco Hernandez M, Mendez Fernandez MJ, Ruiz Ramirez JC. [Bone mineral density and bone mineral content variations in various communities]. *Anales espanoles de pediatria.* 2000;52(4):319-26.
136. Cilleruelo ML, Roman-Riechmann E, Sanchez-Valverde F, Donat E, Manuel-Ramos J, Martín-Orte E, et al. Spanish national registry of celiac disease: incidence and clinical presentation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014;59(4):522-6.
137. Zanchi C, Di Leo G, Ronfani L, Martellosi S, Not T, Ventura A. Bone metabolism in celiac disease. *J Pediatr.* 2008;153(2):262-5.
138. Mager DR, Qiao J, Turner J. Vitamin D and K status influences bone mineral density and bone accrual in children and adolescents with celiac disease. *Eur J Clin Nutr.* 2012;66(4):488-95.
139. McFarlane XA, Bhalla AK, Reeves DE, Morgan LM, Robertson DA. Osteoporosis in treated adult coeliac disease. *Gut.* 1995;36(5):710-4.
140. Pantaleoni S, Luchino M, Adriani A, Pellicano R, Stradella D, Ribaldone DG, et al. Bone mineral density at diagnosis of celiac disease and after 1 year of gluten-free diet. *ScientificWorldJournal.* 2014;2014:173082.
141. Valdimarsson T, Löfman O, Toss G, Ström M. Reversal of osteopenia with diet in adult coeliac disease. *Gut.* 1996;38(3):322-7.
142. Valdimarsson T, Toss G, Ross I, Löfman O, Ström M. Bone mineral density in coeliac disease. *Scand J Gastroenterol.* 1994;29(5):457-61.
143. Scotta MS, Salvatore S, Salvatoni A, De Amici M, Ghiringhelli D, Brogginini M, et al. Bone mineralization and body composition in young patients with celiac disease. *Am J Gastroenterol.* 1997;92(8):1331-4.
144. Martin J, Geisel T, Maresch C, Krieger K, Stein J. Inadequate nutrient intake in patients with celiac disease: results from a German dietary survey. *Digestion.* 2013;87(4):240-6.
145. Mariani P, Viti MG, Montuori M, La Vecchia A, Cipolletta E, Calvani L, et al. The gluten-free diet: a nutritional risk factor for adolescents with celiac disease? *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1998;27(5):519-23.
146. Shepherd SJ, Gibson PR. Nutritional inadequacies of the gluten-free diet in both recently-diagnosed and long-term patients with coeliac disease. *J Hum Nutr Diet.* 2013;26(4):349-58.
147. Zuccotti G, Fabiano V, Dilillo D, Picca M, Cravidi C, Brambilla P. Intakes of nutrients in Italian children with celiac disease and the role of commercially available gluten-free products. *J Hum Nutr Diet.* 2013;26(5):436-44.
148. Langsetmo L, Poliquin S, Hanley DA, Prior JC, Barr S, Anastassiades T, et al. Dietary patterns in Canadian men and women ages 25 and older: relationship to demographics, body mass index, and bone mineral density. *BMC Musculoskelet Disord.* 2010;11:20.
149. Okubo H, Sasaki S, Horiguchi H, Oguma E, Miyamoto K, Hosoi Y, et al. Dietary patterns associated with bone mineral density in premenopausal Japanese farmwomen. *Am J Clin Nutr.* 2006;83(5):1185-92.
150. Tucker KL, Chen H, Hannan MT, Cupples LA, Wilson PW, Felson D, et al. Bone mineral density and dietary patterns in older adults: the Framingham Osteoporosis Study. *Am J Clin Nutr.* 2002;76(1):245-52.
151. Ohlund K, Olsson C, Hernell O, Ohlund I. Dietary shortcomings in children on a gluten-free diet. *J Hum Nutr Diet.* 2010;23(3):294-300.
152. Penagini F, Dilillo D, Meneghin F, Mameli C, Fabiano V, Zuccotti GV. Gluten-free diet in children: an approach to a nutritionally adequate and balanced diet. *Nutrients.* 2013;5(11):4553-65.
153. Andıran N, Çelik N, Akça H, Doğan G. Vitamin D deficiency in children and adolescents. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2012;4(1):25-9.
154. Valcour A, Blocki F, Hawkins DM, Rao SD. Effects of age and serum 25-OH-vitamin D on serum parathyroid hormone levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(11):3989-95.

155. Quesada Gomez J, Sosa Henriquez M. Nutrición y osteoporosis. Calcio y vitamina D. Rev Osteoporos Metab Miner. 2009;3(4):165-83.
156. García Vadillo J. Suplementos de calcio y vitamina D ¿para todos?: pros. Reumatología clínica. 2011;7(52):S34-S9.
157. Kirby M, Danner E. Nutritional deficiencies in children on restricted diets. Pediatr Clin North Am. 2009;56(5):1085-103.
158. Barton SH, Kelly DG, Murray JA. Nutritional deficiencies in celiac disease. Gastroenterol Clin North Am. 2007;36(1):93-108, vi.
159. Nusier MK, Brodtkorb HK, Rein SE, Odeh A, Radaideh AM, Klungland H. Serological screening for celiac disease in schoolchildren in Jordan. Is height and weight affected when seropositive? Ital J Pediatr. 2010;36:16.
160. Brambilla P, Picca M, Dilillo D, Meneghin F, Cravidi C, Tischer MC, et al. Changes of body mass index in celiac children on a gluten-free diet. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2013;23(3):177-82.
161. Ukkola A, Mäki M, Kurppa K, Collin P, Huhtala H, Kekkonen L, et al. Changes in body mass index on a gluten-free diet in coeliac disease: a nationwide study. Eur J Intern Med. 2012;23(4):384-8.
162. Evaluación y seguimiento de la estrategia NAOS: conjunto mínimo de indicadores. Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad 2013 [Available from: <http://www.observatorio.naos.aesan.msssi.gob.es/web/indicadores/indicadores.shtml!>